

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1932

THÈSE

N°.....

414

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

David Guillaume LEVY

Chef de Laboratoire à St-Lazare
et à la Maternité de Port-Royal

Né le 1^{er} Novembre 1895, à Tunis (Tunisie)

Président de thèse : M. LE PROFESSEUR GOUGEROT
Professeur de clinique des maladies cutanées et syphilitiques
à la Faculté de Médecine de Paris.
Médecin de l'Hôpital Saint-Louis
Chevalier de la Légion d'honneur.

CONSIDÉRATIONS

sur la

réaction de BORDET-WASSERMANN

Étude de deux techniques nouvelles

PARIS

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, BOULEVARD SAINT-MICHEL (V^e)

1932



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1932

THÈSE

N°.....

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

David Guillaume LEVY

Chef de Laboratoire à St-Lazare
et à la Maternité de Port-Royal

Né le 1^{er} Novembre 1895, à Tunis (Tunisie)

Président de thèse : M. LE PROFESSEUR GOUGEROT
Professeur de clinique des maladies cutanées et syphilitiques
à la Faculté de Médecine de Paris.
Médecin de l'Hôpital Saint-Louis
Chevalier de la Légion d'honneur.

CONSIDÉRATIONS

sur la

réaction de BORDET-WASSERMANN

Étude de deux techniques nouvelles

PARIS

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, BOULEVARD SAINT-MICHEL (v°)

1932



LE DOYEN M. BALTHAZARD.

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale	GREGOIRE.
Physiologie	BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	CLERC.
Pathologie chirurgicale	LENORMANT.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	{ CARNOT.
	{ BEZANÇON.
	{ ACHARD.
	{ Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale....	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
Clinique chirurgicale	{ DELBET.
	{ CUNEO.
	{ LEJARS.
	{ GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	{ COUVELAIRE.
	{ BRINDEAU.
	{ JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la tuberculose	Léon BERNARD.
Professeur sans chaire	{ MAUCLAIRE.
	{ MOLON.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
ALAJOUANINE	Neurologie et Psychiatrie.
AUBERTIN	Pathologie médicale.
BENARD Henri	Pathologie médicale.
BROCQ	Pathologie chirurgicale.
BRULE	Pathologie médicale.
BUSQUET	Pharmacologie.
CADENAT	Pathologie chirurgicale.
CATHALA	Pathologie médicale.
CHABROL	Pathologie médicale.
CHAILLEY-BERT	Physiologie.
CHEVALLIER	Pathologie médicale.
DOGNON	Physique.
DONZELOT	Pathologie médicale.
ECALLE	Obstétrique.
FEY	Urologie.
GASTINEL	Bactériologie.
GATELLIER	Pathologie chirurgicale.
DE GAUDART D'ALLAINES	Pathologie chirurgicale.
GIROUD	Histologie.
HARVIER	Pathologie médicale.
HAZARD	Pharmacologie.
HOVELACQUE	Anatomie.
HUGUENIN	Anatomie pathologique.
HUTINEL	Pathologie médicale.

MM.	
JOANNON	Hygiène.
LABBE Henri	Chimie biologique.
LAROCHE Guy	Pathologie médicale.
LEVEUF	Pathologie chirurgicale.
LEVY-VALENSI	Neuro-psychiatrie.
LIAN	Pathologie médicale.
MONDOR	Pathologie chirurgicale.
MOREAU	Pathologie médicale.
MOULONGUET	Pathologie chirurgicale.
MOURE	Pathologie chirurgicale.
OBERLING	Anatomie pathologique.
OLIVIER	Anatomie.
PIÉDELIEVRE	Médecine légale.
PORTES	Obstétrique.
QUENU	Pathologie chirurgicale.
RICHET	Physiologie.
SANNIE	Chimie biologique.
SEZARY	Dermatologie et syphili-
VALLERY-RADOT	graphie.
(Pasteur)	Pathologie médicale.
VAUDESCAL	Obstétrique.
VELTER	Ophtalmologie.
VERNE	Histologie.
VIGNES	Obstétrique.

III. — AGRÉGÉS APPELÉS A L'EXERCICE pour le service des examens

MM.	
GUENIOT	Obstétrique.
LEQUEUX	Obstétrique
LEROUX	Anatomie pathologique.

MM.	
NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie.
REITTERER	Histologie
ZIMMERN	Physique.

IV. — Agrégés chargés du cours de clinique annexe à titre permanent

MM	
ABRAMI	Clinique médicale.
CHIRAY	Clinique médicale.
DEBRE	Clinique médicale.
DUVOIR	Clinique médicale.
BASSET	Clinique chirurgicale.
CHEVASSU	Clinique chirurgicale.
HEITZ BOYER	Clinique chirurgicale.

MM.	
MATHIEU	Clinique chirurgicale.
MOCQUOT	Clinique chirurgicale.
PROUST	Clinique chirurgicale.
SCHWARTZ	Clinique chirurgicale.
LE LORIER	Clinique obstétricale.
LEVY-SOLAL	Clinique obstétricale.
METZGER	Clinique obstétricale.

V. — CHARGES DE COURS

MM. MAUCLAIRE, professeur sans chaire .	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY	Stomatologie.
CHAILLEY-BERT	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA MERE

A MA FEMME

A MES FRERES ET SŒUR

MEIS ET AMICIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GOUGEROT

Professeur de clinique des maladies cutanées et syphilitiques
à la Faculté de Médecine de Paris
Médecin de l'Hôpital Saint-Louis
Chevalier de la Légion d'honneur.

*Avec tous nos remerciements et
notre reconnaissance pour l'honneur
qu'il nous a fait en acceptant la pré-
sidence de cette thèse.*

A MON MAITRE

MONSIEUR LE DOCTEUR A. LÉVY-BING

Médecin de Saint-Lazare

Commandeur de la Légion d'honneur

*qui en toutes circonstances a bien
voulu nous prodiguer sa bienveil-
lance, hommage de ma respectueuse
affection et de toute ma gratitude.*

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX DE PARIS

M. LE PROFESSEUR KIRMISSON (in memoriam)

M. LE PROFESSEUR BROCA (in memoriam)

M. LE PROFESSEUR BRINDEAU

M. LE PROFESSEUR SEBILEAU

M. LE PROFESSEUR CLAUDE

M. LE PROFESSEUR NETTER

M. LE PROFESSEUR RAVAUT

M. LE PROFESSEUR TESSIER

M. LE PROFESSEUR VILLARET

M. LE PROFESSEUR METZGER

M. LE DOCTEUR BERGER (in memoriam)

Avant-propos

Si la précision mathématique est une utopie en matière de séroréaction de Wassermann dans laquelle tous les réactifs ne sont que des éléments biologiques sujets à variations très grandes, il est cependant permis de chercher à réduire au minimum leurs causes d'erreurs.

C'est ce que nous avons tenté de faire.

Nous attachant à l'étude de la plupart des techniques, nous avons essayé de dégager quels étaient les facteurs et les phénomènes responsables de leurs imperfections.

Pour cela il nous a fallu reprendre la réaction par sa base et étudier systématiquement ses différents éléments et leurs actions réciproques.

Nous aidant des recherches de nos prédécesseurs et des nôtres, nous avons pu établir deux techniques nouvelles — l'une au sérum chauffé, l'autre au sérum non chauffé — qui nous ont donné dans tous les cas des résultats exacts et toujours comparables.

Ces techniques simples, faciles à exécuter et à interpréter et qui ne nécessitent aucun titrage préalable, tout en conservant une rigueur absolue, nous ont donné

toujours des résultats supérieurs aux techniques couramment employées.

Avant d'aborder l'étude de notre sujet, qu'il nous soit permis de témoigner une fois de plus notre profonde reconnaissance à notre excellent maître le Docteur A. Lévy-Bing dont les conseils précieux et autorisés et dont les encouragements affectueux nous ont permis et facilité dans une mesure inespérée nos travaux et nos recherches. Notre gratitude restera entière envers celui qui, nous faisant confiance, a bien voulu nous faire nommer, il y a huit ans, chef de son laboratoire à Saint-Lazare. Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre respectueux attachement et l'assurance de notre entier dévouement.

Introduction

De leurs recherches sur l'hémolyse et sur l'immunité en général, Bordet et Gengou ont mis en lumière le phénomène suivant : si on mélange un sérum contenant un anticorps avec l'antigène correspondant, et si on ajoute à ce mélange un complément, ce dernier va être détruit par le complexe anticorps + antigène.

Ce phénomène porte le nom de déviation du complément (Bordet et Gengou) ou de fixation du complément (Widal).

Mais la destruction du complément ne se trahit par aucune manifestation évidente.

Pour la rendre telle, Bordet et Gengou ont usé d'un artifice ingénieux. Ils ont eu recours à une épreuve supplémentaire qui consiste à ajouter au mélange précédent (mélange qui doit avoir séjourné plus ou moins à l'étuve), un nouveau complexe anticorps + antigène formé par des globules de mouton et de leur sensibilisatrice chauffée à 56°.

Présent le complément déterminera l'hémolyse des globules. Absent les globules n'hémolyseront pas. Dans le premier cas on déduira l'absence, dans le deuxième cas la présence d'anticorps.

La réaction de fixation du complément de Bordet et Gengou comporte donc deux temps :

1^{er} temps : Réaction proprement dite : mélange antigène + anticorps + alexine. Séjour du mélange pendant un temps plus ou moins long à l'étuve à 37°.

2^e temps : Epreuve de l'hémolyse.

Cette réaction de Bordet et Gengou est une réaction générale et permet la recherche de sensibilisatrices les plus diverses.

Wassermann, Bruck et Neisser les premiers eurent l'idée de l'appliquer à la recherche des anticorps syphilitiques.

Dans l'impossibilité de se procurer des cultures de tréponèmes ils employèrent comme antigène, un extrait aqueux de foie hérédo-syphilitique : ils avaient supposé que l'extrait de produits microbiens jouait au point de vue antigénique un rôle équivalent à celui du microbe lui-même.

Les résultats confirmèrent cette application, ce qui fit considérer par Wassermann et ses collaborateurs leur réaction comme strictement spécifique.

Mais bientôt (Levaditi et Marie) on s'aperçut que l'extrait alcoolique de n'importe quel organe *non syphilitique* pouvait remplacer souvent avantageusement les extraits *d'organes syphilitiques*.

Dès lors il n'était plus possible de considérer les réactions de Bordet-Wassermann comme une véritable réaction spécifique, capable de déceler les véritables anticorps syphilitiques contenus dans le sérum.

Conçue donc sur le principe de la méthode de

Bordet et Gengou, la séroration de la syphilis s'est trouvée par l'effet d'une pure coïncidence, n'être qu'une réaction colloïdale capable de mettre en évidence un trouble physico-chimique du sérum provoqué par la syphilis et caractéristique de cette affection.

Pour peu qu'on veuille alors considérer :

que ce trouble n'est, dans la syphilis, qu'une accentuation de l'état normal des sérums et ne serait dû qu'à une modification qualitative des colloïdes du sérum;

que toutes les recherches physico-chimiques les plus sensibles pour déceler les éléments de cette modification sont restées sans résultat;

que seule une bonne technique de la réaction de Bordet-Wassermann peut la mettre en évidence;

que pour cela, dans cette réaction, il n'entre pas moins de cinq éléments biologiques — éléments éminemment variables suivant l'individu de qui ils proviennent;

on se rendra alors compte de la minutie et des difficultés que cache l'exécution d'une bonne technique de séroration de la syphilis.

Pour toutes ces raisons, la réaction de Wassermann est demeurée la plus difficile et la plus compliquée de toutes les réactions biologiques; et la quantité innombrable des techniques qui existent est déjà une preuve qu'aucune d'elles n'est parfaite.

Dans ce travail, qui est le résultat d'une expérience de plus de huit années, nous avons recherché quelles étaient les causes d'erreur de la réaction de Bordet-

Wassermann, et essayé de donner deux nouvelles techniques, l'une au sérum chauffé, l'autre au sérum non chauffé, conçues de façon à réduire au minimum ces causes d'erreur.

Etant donnée la complexité de la réaction de Bordet-Wassermann, il nous a paru nécessaire de consacrer une partie de ce travail à l'étude de ses divers constituants.

Nous n'avons d'ailleurs insisté que sur les points que nous avons jugé présenter un intérêt particulier et sur certaines recherches personnelles qui nous ont aidé à l'établissement de nos techniques — renvoyant pour les détails courants aux traités de sérologie.

Technique au sérum chauffé

LES ELEMENTS DE LA REACTION

ANTIGÈNE

Si de tous les éléments qui entrent dans la réaction de Bordet-Wasserman l'antigène est sans conteste le plus important, il est aussi le moins bien connu et le moins caractérisé dans son fonctionnement.

Dans l'état actuel des choses on se perd en hypothèses sur le mécanisme intime de son action. Quelle est celle qui de toutes se rapproche le plus de la vérité? Nous l'ignorons. Tant que nos moyens physiques et chimiques ne seront pas plus parfaits nous en serons réduits à des suppositions.

Nous savons que Wassermann, Neisser et Bruck eurent les premiers l'idée d'appliquer à la syphilis la réaction de Bordet et Gengou pour la recherche des anticorps.

Mais dans l'impossibilité de se procurer des cultures de tréponèmes, ils pensèrent s'adresser aux extraits aqueux d'organes syphilitiques, en particulier au foie

hérédo-syphilitique. Ils considéraient, à juste raison d'ailleurs, que l'extrait de produits microbiens jouait au point de vue antigénique le même rôle que le microbe lui-même (théorie de Gengou). Mais bientôt Levaditi et Marie montrèrent qu'une macération de *foie normal* pouvait donner les mêmes résultats que ceux de foie hérédo-syphilitique, et que d'autre part les substances actives de ces organes sont solubles dans l'alcool.

Depuis, les travaux se sont multipliés, qui ont prouvé que l'extrait alcoolique d'organes les plus divers, d'homme ou d'animal, même appartenant à des espèces réfractaires à la syphilis, étaient susceptibles de fournir d'excellents antigènes pour la séroréaction de la syphilis.

Enfin Noguchi, en 1909, montre que dans ces extraits alcooliques, les substances insolubles dans l'acétone sont seules actives, alors que les substances qui y sont solubles ont une action anticomplémentaire.

En définitive, l'antigène de la réaction de Bordet-Wassermann est constitué par la fraction de *lipoïdes insolubles* dans l'acétone et l'éther et solubles dans l'alcool.

En poussant plus loin les recherches, on a essayé d'intensifier le pouvoir antigénique de ces préparations par l'addition de lipoïdes chimiquement définis, notamment la cholestérine (Desmoulières).

Il n'en fallait pas davantage pour ruiner la conception d'immunité, et la séroréaction de Bordet-Wassermann ne pouvait plus être considérée comme une

vraie réaction spécifique capable de déceler les véritables anticorps syphilitiques contenus dans le sérum.

Dès qu'il fut évident que la réaction de Bordet-Wassermann ne révélait pas un phénomène d'immunité, innombrables furent les hypothèses qui essayèrent d'en expliquer la cause : théories chimiques et théories physico-chimiques, rapports quantitatifs des constituants du sérum, déséquilibre humoral, floculation due à l'instabilité colloïdale des sérums syphilitiques, etc., etc., faisaient d'elle non une réaction spécifique, mais une réaction spéciale à la syphilis.

Les choses en étaient là lorsque, dans ces dernières années, de nombreuses recherches sont venues apporter de nouvelles lumières, mais elles sont encore loin d'en donner une solution définitive.

Avec elles la théorie immunologique reprend un regain d'actualité. D'après les expériences de Sachs et de ses élèves, « les modifications qui se produisent dans le sang des syphilitiques consistent réellement en une formation d'anticorps, c'est-à-dire en une réaction d'immunité contre les lipoides. »

En d'autres termes, l'immunité n'existerait pas spécialement et exclusivement vis-à-vis du tréponème, mais aussi vis-à-vis de tout un groupe de substances de désintégration cellulaires qui prennent particulièrement naissance dans l'organisme atteint de syphilis.

Cependant, Levaditi inoculant des lapins avec des tréponèmes tués obtient avec leur sérum des séro-réactions positives, mais il constate que ces lapins restent aptes à contracter la syphilis. De ce fait ils

n'ont acquis aucune immunité, d'où il résulte que les substances qui donnent lieu aux réactions sérologiques de la syphilis sont indépendantes de tout processus d'immunisation.

La question en est là et attend sa solution.

Préparation des antigènes. — Pour les détails des techniques nous renvoyons le lecteur aux traités spécialisés.

Choix d'un antigène. — Les premiers antigènes obtenus par macération aqueuse de foie hérédosyphilitique étaient facilement altérables et nécessitaient une préparation et un titrage à chaque nouvelle série de réactions. On les a abandonnés après la découverte des extraits alcooliques.

Le type des antigènes alcooliques est l'extrait de foie hérédosyphilitique, encore employé par la plupart des sérologistes, soit seul, soit concurremment avec d'autres antigènes.

De la même façon on a préparé d'autres extraits mais en partant d'organes normaux humains et animaux (cœur humain, cœur de veau, de bœuf, de cobaye, etc.), qui fournissent d'excellents antigènes.

Certains auteurs (antigène de Lesser) font macérer les organes dans l'éther. Ces antigènes ont cependant l'inconvénient de contenir les lipoïdes anticomplémentaires que l'on cherche généralement à éliminer.

Noguchi, au cours de ses recherches, établit, en 1909, que les lipoïdes insolubles dans l'acétone étaient

seuls spécifiques, alors que les autres étaient souvent doués de propriétés anticomplémentaires ou hémolytiques.

De là est né un nouveau procédé de préparation de l'antigène.

1° Antigène de Noguchi. — Une macération d'organe, (foie, cœur, etc.) dans l'alcool est traitée après évaporation par l'éther, et après nouvelle évaporation, le résidu est traité par l'acétone. Le précipité qui se forme est recueilli et dissous dans l'alcool.

2° Antigène de Bordet-Ruelens. — Dans la préparation de celui-ci, au lieu de précipiter les lipoides de leur solution étherée, on traite l'organe directement par l'acétone, et l'organe ainsi traité est alors repris par l'alcool.

3° Antigène de Scaltritti. — Dans le but de pousser plus loin la purification des produits antigéniques, l'auteur isole les lipoides de l'extrait alcoolique en les précipitant de leurs solutions par le chlorure de cadmium.

Enfin certains auteurs, toujours en vue d'améliorer les qualités de l'antigène, ont essayé d'y ajouter des éléments nouveaux réputés capables de renforcer les propriétés antigéniques de ces préparations. Parmi ceux-là, la cholestérine est en tête de liste; le plus connu est celui de Desmoulières. La dose de cholestérine est de 0,10 par 10 cc. d'extrait alcoolique de foie normal ou syphilitique.

L'antigène Jaubert diffère du précédent par des détails de technique et par l'emploi de cœur de bœuf au lieu de foie.

D'autres antigènes emploient diverses autres doses de cholestérine.

Enfin il existe des antigènes artificiels à base de lipoïdes chimiquement définis (cholestérine, oléate de soude, acide oléique, lécithine, etc., ou encore le phéno-alcool de Molinari). Ces antigènes ne peuvent entrer en ligne de compte que comme tentatives intéressantes au point de vue théorique, car ils sont nettement inférieurs aux extraits d'organes.

Une nouvelle conception de l'antigène est apportée par les travaux de Sciarra qui pense avoir démontré l'existence d'auto-antigènes lipoïdiques contenus dans le sérum sanguin des syphilitiques.

Par l'addition d'alcool méthylique il libérerait cet antigène dans le sérum à examiner, ce qui évite l'emploi d'un antigène artificiel.

De tous ces antigènes lequel faut-il choisir?

D'après la courte revue précédente on peut les ramener à trois types principaux : les extraits alcooliques, les extraits acétono-alcooliques et les antigènes cholestérinés.

Dans une réaction de Bordet-Wassermann, il est toujours intéressant d'employer plusieurs antigènes ou encore, comme le conseille Rubinstein, un mélange d'antigènes éprouvés.

Etant donnée l'ignorance dans laquelle nous nous trouvons vis-à-vis des constitutants de ces préparations et de leur mécanisme intime, nous sommes réduits à choisir l'antigène empiriquement par tâtonnements.

N'importe quelle préparation est susceptible de donner de bons antigènes.

C'est pourquoi nous ne conseillons pas spécialement tel ou tel autre procédé de préparation, mais une préparation *longuement et minutieusement étudiée* donnant des résultats concordant avec la clinique; des résultats négatifs avec des sérums normaux et des sérums appartenant à d'autres malades que des syphilitiques et des résultats positifs avec des sérums syphilitiques (1).

1. Pour le titrage et renseignements supplémentaires, nous renvoyons aux traités de sérologie.

ALEXINE

Élément thermolabile, l'alexine est détruite par chauffage à 56°, pendant une demi-heure. D'après certains auteurs, elle ne serait pas complètement détruite et se transformerait en complémentotoïde; ce complémentotoïde aurait la propriété de se fixer sur l'ambocepteur mais n'agirait plus sur l'antigène (Erlich, Noguchi, Bronfenner).

Pour d'autres au contraire sa destruction serait instantanée à cette température de 56°. A notre avis, dix minutes de bain-marie à 56° suffisent pour la réduire au point de la rendre pratiquement négligeable. En opérant de la sorte, on respecte certains anticorps labiles (ceci se voit par exemple dans la syphilis au début), que le chauffage prolongé à 56° peut détruire.

L'alexine, élément très fragile, est détruite par le vieillissement, les précipités biologiques ou minéraux. Son activité ne s'exerce qu'en des milieux isotoniques et son action est même sous la dépendance de sa dilution.

Les acides et les bases détruisent son action. Par contre son activité se manifeste au maximum dans les milieux dont l'alcalinité est égale à celle du sang (Michaëlis et Skwirski). Le bicarbonate de soude en particulier semble avoir une action favorisante spéciale. L'acide carbonique aussi favorise son action. L'alcool par contre a une action empêchante.

Quant à sa nature, elle serait protéïque pour les uns, lipoidique pour les autres, composée de lipoides et de savons pour d'autres encore.

Le mécanisme intime de son action reste encore à démontrer.

Les uns l'ont comparée à une diastase. Cependant, contrairement à celle-ci, elle s'épuise au cours des réactions et semble être soumise aux lois quantitatives des proportions définies.

Préparation du complément pour la séroréaction.

— Comme source d'alexine on se sert généralement du sérum de cobaye, qui possède un pouvoir alexique des plus actifs, aussi bien au point de vue hémolytique qu'au point de vue fixateur.

Car il faut savoir que deux propriétés sont à considérer dans le choix d'une alexine :

1° Son pouvoir cytolytique en présence d'un complexe hémolytique.

2° Son pouvoir de fixation en présence d'un complexe anticorps + antigène.

Ces deux propriétés se trouvent réunies au maximum dans le sérum de cobaye.

Le sérum de cobaye n'est pratiquement pas hémolytique pour les globules de mouton. Cependant, lorsque le cobaye est malade, notamment dans les cas de tuberculose, ou lorsqu'il a subi plusieurs saignées trop rapprochées, son sérum peut devenir hémolytique pour les globules de mouton.

On évitera les femelles, qui dans les périodes de

gestation ou de lactation sont susceptibles de fournir des alexines capables d'être fixées par les antigènes et donner lieu à des réactions positives non spécifiques.

On ne saignera les cobayes que s'ils sont à jeun, leur sérum étant plus actif.

Afin d'obtenir une alexine toujours semblable, il est prudent de nourrir les animaux de la même façon.

Enfin, pour obtenir une alexine possédant un pouvoir constant, il est préférable de mélanger le sang d'au moins trois cobayes. Ce mélange a l'avantage de donner un « sérum moyenne » ayant très approximativement la même richesse en complément. Cette dernière considération ne doit cependant pas nous dispenser de vérifier, par des titrages appropriés, que la valeur alexique du mélange est bien utilisable.

Prélèvement du sang de cobaye. Le sang est extrait par ponction cardiaque. Cette technique a le grand avantage de ne pas sacrifier l'animal, qui peut nous servir de très nombreuses fois à la condition d'espacer les prélèvements. Une fois le sang recueilli dans un large tube stérile et bien sec, on le porte à 37° pour lui permettre de se coaguler. Quand le caillot est rétracté, le sang est déposé à la glacière, où se poursuivra la séparation du caillot et du sérum. Dans le cas où le caillot se décolle mal, on peut l'aider en passant entre lui et les parois du tube, un fil de platine ou une fine baguette de verre stérilisés.

Une fois la séparation effectuée, il suffit de décanter le sérum. Il vaut mieux essayer de l'obtenir de cette

façon plutôt que d'être obligé de le centrifuger : la centrifugation, par les vibrations du centrifugeur, n'est pas sans influence sur les qualités du complément. Nous avons vu certains compléments réduits d'un tiers de leur valeur par simple passage au centrifugeur. En règle générale, le complément demande à n'être pas trop manipulé.

L'alexine doit être employée dans les 24 heures ou au plus dans les 36 heures (dans ce cas tenir compte de la diminution) car son pouvoir alexique diminue assez rapidement (de moitié en 24 heures et quelquefois réduit à 0 si la température est élevée).

En raison de cet inconvénient, Ronchèse propose de faire dissoudre à saturation du fluorure de sodium *bien neutre* dans le sérum source de complément. Le complément se maintiendrait ainsi à un titre constant pendant près de quinze jours. Il vaut mieux éviter ces artifices qui ne peuvent être que sources nouvelles d'erreurs, dans une réaction où elles sont déjà si nombreuses.

Au moment de l'employer on le dilue dans l'eau physiologique.

La dilution la plus répandue est celle à 50 % dans l'eau physiologique.

Nous l'employons à la dilution de 40 de sérum de cobaye pour 60 d'eau physiologique, et nous l'employons dans la réaction à la dose de 0,1 (soit 0,04 de complément actif). Nous verrons plus loin quelles sont les raisons qui nous ont fait adopter cette dilution et cette dose.

LE SÉRUM HÉMOLYTIQUE

L'hémolysine est un anticorps, et comme tel elle est un produit de l'immunisation.

C'est par l'introduction dans l'organisme d'un animal de globules rouges d'espèce étrangère que l'on provoque la formation de l'hémolysine.

Cette hémolysine possède, comme nous le savons, une double affinité, d'une part pour les globules de l'espèce qui lui a donné naissance et d'autre part pour l'alexine (ambocepteur de Erlich).

Elle se fixe aussi électivement sur les stromas globulaires et le précipité que l'on obtient en neutralisant par l'acide chlorhydrique, une solution alcaline de stromas, a la propriété de fixer l'alexine.

Nombreuses sont les hypothèses qui ont essayé d'expliquer sa nature. Pour les uns (Pick, Rhodan, Furman) elles seraient liées au sérum-globuline, pour les autres (Pieltre et Chrétien) au sérum-albumine.

Quant à son fonctionnement, Liebermann l'attribue à une action sur le complément qui mettrait en liberté les savons de l'alexine. Ceux-ci dégagés de leur combinaison exerceraient leur pouvoir hémolytique sur les globules.

On s'est demandé d'autre part quelle était la substance lépinogène du globule. Bauz, Forsmann, Landsteiner et Dauwitz l'attribuent à une substance soluble

dans l'éther. Effectivement, l'extrait éthéré des stromas injecté à des lapins provoque la formation d'hémolysines.

Hémolysine antimouton : c'est l'hémolysine qui est le plus souvent employée.

Pour sa préparation l'animal de choix est le lapin.

Plusieurs voies d'introduction ont été préconisées :

1° L'ingestion d'hématies; mais le résultat est nul.

2° La voie épidermique et intra-épidermique; mais le titre du sérum ainsi obtenu n'est pas très élevé.

3° La voie intra-péritonéale et intra-veineuse par contre donnent des résultats remarquables. C'est par conséquent ces deux voies qu'il faudra toujours employer.

Quelques précautions indispensables sont à prendre :

Le sang de mouton sera recueilli dans des flacons stériles et secs.

Ce sang aura été défibriné puis filtré à travers un coton stérile, ensuite centrifugé. Les globules seront lavés à plusieurs reprises au sérum physiologique et autant de fois que cela sera nécessaire pour éliminer toute trace de sérum (4 ou 5 fois au moins). (Le sérum est très dangereux pour les lapins et est susceptible de déclancher des accidents sériques violents).

La purée de globules ainsi préparée sera reprise par la quantité d'eau physiologique nécessaire pour que le mélange soit suffisamment fluide (la dilution au 1/2 suffit en général).

On se sert, pour l'injection, d'une aiguille assez fine,

et on pousse lentement, soit dans le péritoine, soit dans la veine marginale de l'oreille.

Dans le péritoine injecter 5 cc. de suspension globulaire, 3 ou 4 fois à 4 jours d'intervalle.

Dans la veine marginale il vaut mieux injecter des quantités plus faibles, 2 cc. environ.

On peut faire varier la quantité et injecter soit des doses progressivement croissantes, soit des doses progressivement décroissantes.

4 à 8 jours après la dernière injection on sacrifie l'animal.

Mais auparavant il est préférable de lui faire un petit prélèvement de sang, soit par ponction veineuse, soit par ponction cardiaque, et vérifier l'activité hémolytique de son sérum.

Dans le cas d'insuffisance on pourra renouveler les injections de suspension globulaire. Mais d'une façon générale, lorsque le taux n'est pas obtenu d'emblée, il est rare de le voir monter par de nouvelles tentatives. Il y a des animaux plus ou moins aptes à donner de bons sérums hémolytiques.

Afin d'obtenir un sérum actif, il est conseillé de préparer plusieurs animaux simultanément, et de prendre le mélange de leurs sangs.

Si l'échantillon prélevé montre que le taux d'activité est atteint, on saigne l'animal à blanc par ponction de la carotide.

Pour cela, après avoir bien fixé l'animal, on se sert soit d'un petit trocart ou simplement d'une grosse aiguille qu'on introduit dans le bout central de l'ar-

tère. Les instruments doivent être bien secs et stérilisés.

Un lapin du poids de 2 k. ou 2 k. 500 fournit de 60 à 100 cc. de sang.

Préparation. — Le caillot une fois formé, on décante le sérum; on le distribue ensuite dans des tubes qu'on bouche soit à la flamme soit à la paraffine.

Ces tubes sont ensuite portés au bain-marie une demi-heure à 55-56°. L'hémolysine est prête à l'emploi. Il suffit au moment de l'usage de la diluer suivant le titre.

Si toutes ces opérations ont été conduites correctement en milieu stérile, le sérum hémolytique peut se conserver ainsi pendant très longtemps (2 ou 3 ans) sans perdre de son activité.

Il faut toutefois le soustraire à l'action de la lumière.

Nous considérons comme absolument inutiles, et même dangereux, certains procédés de conservation qu'on a proposés : phénol, fluorure de sodium, etc., qui peuvent être source d'erreurs et qui de plus diminuent le pouvoir hémolytique de ces sérums.

LE SANG DE MOUTON

On se procure le sang de mouton aux abattoirs. Le sang de plusieurs animaux est recueilli directement dans des flacons stériles et secs, à large embouchure, contenant des perles de verre ou de fragments de baguettes de verre.

Par agitation du flacon on défibrine le sang, ensuite on le centrifuge.

Après décantation du sérum, on lave les globules à l'eau physiologique et après une nouvelle centrifugation on décante l'eau. On recommence l'opération à plusieurs reprises jusqu'à obtention d'une eau de lavage parfaitement incolore et limpide. Trois lavages suffisent en général.

Le culot de centrifugation ainsi obtenu va nous servir à préparer la suspension globulaire.

La dilution généralement employée est à 5 %, en partant du volume initial de sang de mouton. C'est-à-dire que le culot de centrifugation est ramené à l'aide d'eau physiologique au volume de sang de mouton qui a été employé pour l'obtenir; et c'est en partant de cette solution mère qu'on prépare la dilution à 5 %.

La dilution que nous employons, nous, est : *une* partie de globules, directement prélevés dans le culot de centrifugation pour *trois* d'eau physiologique : 0,1 de cette dilution contient approximativement la même

quantité de globules que 1 cc. à 5 %. Il faut toujours, avant chaque série de séroréactions, vérifier la qualité des hématies qui peut être variable d'un animal à l'autre et pour le sang d'un même animal, leur résistance peut être modifiée par de nombreux facteurs. (Conservation, vieillissement, état athmosphérique, température, etc.)

Nous conseillons d'employer des globules prélevés le jour même.

Quant à la valeur globulaire (concentration en hémoglobine), certains auteurs conseillent de la vérifier pour chaque nouvel échantillon globulaire. Cette opération nous paraît superflue dans notre réaction, le tube témoin nous servant de base de comparaison.

SÉRUM

Le meilleur moyen de prélever le sang consiste dans la ponction veineuse au pli du coude.

On serre le bras par un garrot en caoutchouc à 5 ou 10 cm. au-dessus de l'endroit choisi pour la piqûre. Pour avoir un écoulement régulier et abondant, il faut que le garrot soit suffisamment serré pour empêcher la circulation veineuse, mais permette encore la circulation artérielle, sans quoi, il arrive que le sang s'écoule mal ou pas du tout. L'optimum est obtenu lorsque les veines deviennent bien turgescentes et que le pouls radial reste encore perceptible.

Dans ces conditions on peut retirer autant de sang qu'il est nécessaire; 10 à 15 cc. sont suffisants.

Le prélèvement se fait à l'aide d'aiguilles spéciales (aiguilles de Vernes, de Cl. Simon, etc.) qui permettent de recueillir le sang directement dans le tube à essai. Il vaut mieux choisir ce tube large. Il doit être stérile et sec et de plus légèrement chauffé (aux environs de 37-40°), afin d'éviter la buée qui se produit au moment où le sang coule à son intérieur.

Le sang est ensuite porté à l'étuve à 37° ou, à défaut d'étuve, enveloppé dans du coton et mis en un endroit où il ne se refroidisse pas rapidement. L'action du froid, immédiatement après le prélèvement,

empêche le caillot de se rétracter et le sérum de transsuder.

Après 1 à 3 heures d'étuve, on peut alors le placer à la glacière jusqu'au moment de l'examen.

Nous déconseillons de faire les prélèvements à la seringue. Si on y est obligé, bien veiller à ce qu'elle soit parfaitement sèche et bien propre de toute trace de médicament.

La coagulation du sérum s'étant produite dans de bonnes conditions, le sérum surnage le caillot. Il est limpide, de couleur jaune citrin. Cependant l'aspect du sérum peut varier suivant les individus : de teinte jaune verdâtre chez les ictériques, il est opaque et lactescent quand la saignée est pratiquée en pleine période digestive. D'autre fois le sérum est hémolytique et sa teinte varie du rose clair au rouge rubis. Ceci a lieu à la suite d'une faute de technique : tube incomplètement sec ou contenant des traces d'acide, d'alcool, etc.; aiguille insuffisamment nettoyée; seringue qu'on retire de l'eau de stérilisation et qu'on s'imagine sécher en la faisant fonctionner 2 ou 3 fois à vide; mauvais nettoyage des seringues qui laisse persister des impuretés médicamenteuses.

Cela se produit rarement par fragilité pathologique des hématies du malade.

On ne saurait trop recommander de redoubler de précautions afin d'éviter ces hémolyses qui rendent le sérum inapte à l'examen.

Quant aux sérums lactescents, on peut les éviter en faisant le prélèvement loin des repas. D'une façon

générale, pour la bonne marche de la réaction, il est préférable d'ailleurs, de ne faire des prises de sang que chez des individus à jeun depuis 3 ou 4 heures et même davantage.

Le sérum surnageant le caillot est transvasé dans d'autres tubes au moment de la réaction; si par hasard il contenait quelque hématies en suspension, il n'est pas nécessaire de le centrifuger, car ces globules ne sont pas une contre-indication pour la réaction.

Dans le cas où le caillot se décolle mal, on peut, à l'aide d'un fil de platine ou d'une baguette de verre bien secs et stériles, effectuer ce décollement.

Dans l'éventualité où le caillot n'est pas décollé au moment de la réaction, il suffit alors de le centrifuger.

Etude du complexe hémolytique

Il nous a semblé que, d'une façon générale, l'étude du complexe hémolytique n'a pas suffisamment préoccupé les auteurs, ou du moins, ils ne paraissent pas lui avoir attribué l'importance primordiale qu'il occupe en réalité dans le mécanisme de la réaction. Les uns l'ont employé à des doses inconsidérées, les autres à des doses insuffisantes. Aucune technique ne paraît avoir voulu l'employer d'une façon rationnelle. C'est pourquoi, avant de passer à l'étude de la réaction même, nous rappellerons quelques principes et quelques lois, régissant le jeu respectif des différents constituants du complexe hémolytique. D'autant plus que notre technique repose en partie sur ces lois et leurs conséquences.

« Les relations quantitatives qui existent entre les trois substances du système hémolytique, nous dit Rubinstein, ont fait l'objet de très nombreuses études. L'accord est loin l'être réalisé à ce sujet. Cela se conçoit aisément, car nous avons à faire à des substances non définies, agissant non seulement en vertu de leur structure spécifique, mais aussi par l'ensemble de la

partie banale qui vient se joindre à l'action principale.

Définitions. — 1° Nous appelons une unité de complément ce qui correspond à 0,04 du mélange du sérum d'au moins trois cobayes mâles, adultes et à jeun.

2° Une unité de sensibilisatrice correspondra à la dose d'hémolysine antimouton nécessaire pour provoquer l'hémolyse en une demi-heure, à 37°, de 0,1 de globules de mouton au 1/5, en présence de 1 dose de complément, sous un volume total de 2 cc. (volume que nous emploierons toujours dans nos réactions). Nous voyons que ces doses sont tout à fait arbitraires, qu'elles n'ont rien d'absolu. On pourrait en établir à l'infini. Mais nous avons adopté celles-ci, parce que ce sont celles que nous employons constamment dans notre réaction.

Leur définition était cependant utile; elle simplifie énormément l'exposé de certains phénomènes sur lesquels nous aurons à revenir par la suite.

Conditions d'action du complexe hémolytique. — Pour qu'une hémolyse soit obtenue dans de bonnes conditions, il est nécessaire que les éléments du système hémolytique soient fournis par des animaux d'espèces éloignées. Autrement il faudrait des doses par trop considérables de produits, ce qui n'est pas sans nuire à la bonne marche de la réaction.

Propriétés de l'alexine. — Si en présence d'une dose d'hémolysine, on fait varier les doses de globules rouges, on constate que pour obtenir l'hémolyse de ces globules, il faut faire varier la dose de complément; mais cette variation du complément n'est pas proportionnelle à la variation de la dose des globules.

D'après Lasseur et Spilmann, pour une variation de concentration de globules de 1 à 32, le complément varie seulement de 1 à 5.

Sensibilisatrice. — Avec une dose fixe de complément, si on fait varier la quantité de globules rouges, pour obtenir l'hémolyse de ces globules, il faut faire varier la sensibilisatrice dans le même sens.

Loi de suppléance. — Si en présence d'une quantité fixe de globules on fait varier la dose d'hémolysine, on constate que les doses nécessaires et suffisantes pour obtenir l'hémolyse varient en sens inverse de celles de l'hémolysine. Mais cette suppléance ne se fait pas d'une façon proportionnelle.

Pour Noguchi, en employant 4, 8, 20 unités d'hémolysine, on peut obtenir les mêmes effets hémolytiques avec $1/3$, $1/5$, $1/10$ d'unité de complément.

Rodet et Fabre ont également signalé ce phénomène et établi qu'il faut un plus grand écart de doses d'hémolysine pour suppléer à un écart de complément passant de 0,2 à 0,1 que de 0,4 à 0,2. Ils ont en outre signalé que cette suppléance ne se fait que dans certaines limites, l'abaissement de l'alexine au-dessous

d'une certaine concentration ne pouvant plus être compensée même par un excès de sensibilisatrice, et réciproquement.

Ronchèse étudie la suppléance réciproque de la sensibilisatrice hémolytique et du complément en recherchant les doses de sensibilisatrice hémolytique nécessaires pour déterminer l'hémolyse de 0,1 de globules (humains ou de mouton dilués au 1/4) avec les diverses doses de complément susceptibles de se trouver dans 0 cmc. 2 de sérum humain frais. Il constate que la valeur du complément actif est fonction du degré de sensibilisation, et, par conséquent, de la quantité de sensibilisatrice hémolytique mise en œuvre.

Il arrive ainsi à établir des complexes hémolytiques *de même valeur* avec les proportions suivantes des deux éléments :

Complément (doses) ..	3	2	1	1/2	1/3	1/5
Sensibilisatrice (doses).	1/3	1/2	1	2	3	8

Ronchèse, cependant, signale que cette suppléance ne se fait que dans certaines limites : c'est ainsi qu'au-dessous de 1/4 de dose de sensibilisatrice hémolytique ou de 1/5 de dose de complément, il n'est plus possible de produire l'hémolyse totale de 0 cmc. 1 de globules au 1/4 (volume total 2 cmc.) même en présence d'un excès de l'autre élément.

Ces divers complexes, ayant la même valeur émolitique, peuvent se substituer les uns aux autres sans changer le résultat de la réaction.

Pour le démontrer, Ronchèse effectue sur un même

sérum chauffé cinq réactions de Bordet-Wassermann dans lesquelles seul le complexe hémolytique diffère. Il engage dans chacune d'elles un des cinq complexes précédents.

Les cinq réactions ont donné les mêmes résultats. D'après Spilmann et Lasseur la formule

$$C_1 (C_2 - A) = K$$

établirait les relations entre le complément et la sensibilisatrice pour hémolyser une même quantité de globules. (C_1 = concentration en sensibilisatrice; C_2 en alexine; A et K étant des constantes.)

Action du chauffage. — Le chauffage à 56° pendant une demi-heure employé pour inactiver le sérum, n'est pas sans influencer les réagines syphilitiques et la sensibilisatrice hémolytique.

Nous verrons page 45 l'action de ce chauffage sur la sensibilisatrice antimouton.

Pour les réagines syphilitiques, cette influence n'est pas moins néfaste. Elles sont déjà affaiblies à 40° après 20 minutes de chauffage; à 50° elles peuvent être réduites de moitié, de 3/4 à 55°. Cette destruction ne suit pas d'ailleurs une marche régulière; elle est proportionnellement plus importante pendant les 10 premières minutes de chauffage que dans les suivantes (Noguchi, Thomsen, Boas).

Rubinstein estime que la réduction est de 1/3 après les 5-10 premières minutes de chauffage à 55°; après 30 minutes, elle serait le 1/4 ou le 1/5 de sa valeur initiale; elle ne serait plus que le 1/10 après 1 heure.

Ces chiffres ne doivent être considérés que comme indication générale, et non comme absolus.

Nous verrons d'ailleurs, (page 45), combien est irrégulière cette action de chauffage à 55° sur les hémolysines; des mêmes expériences refaites en vue d'étudier la variation des réagines syphilitiques nous ont conduits à des résultats qui n'ont rien de régulier.

C'est ainsi que certains anticorps ne sont nullement influencés par le chauffage à 55-56° alors que d'autres sont complètement détruits, soit au début du chauffage, soit au bout d'une demi-heure, soit seulement après une heure.

Rubinstein, faisant varier la température, constate également que les sérums sont inégalement sensibles à son action, suivant qu'ils appartiennent à des diabétiques, à des syphilitiques primaires et secondaires, ou à des paralytiques généraux (ces derniers seraient beaucoup plus stables et résistants à l'action du chauffage).

De l'action des acides et bases. — Les bases, en particulier la soude (Sachs et Altmann), peuvent négativer des sérums positifs. L'action de l'acide est opposée et peut déterminer l'empêchement de l'hémolyse avec le taux d'HCl N/1.000 — N/2.000.

Ces constatations sont d'un très grand intérêt, car elles nous montrent avec quel soin il faut nettoyer tubes, récipients, seringues, pipettes, enfin tout l'appareillage dont on se sert dans la séroréaction de Wassermann.

De l'influence des concentrations des divers éléments dans le premier temps de la réaction

1° L'addition dans le premier temps de la réaction de sérums autres que le sérum du malade comme source de complément, par exemple, n'est pas sans conséquences. Ronchèse a en effet pu démontrer, et nous l'avons vérifié après lui, que l'addition d'un sérum négatif à tout sérum positif arrive à négativer ce dernier si les proportions de sérum négatif sont suffisantes. C'est ainsi qu'en ajoutant des doses progressivement croissantes de sérum négatif à un sérum positif, on peut passer progressivement d'un résultat fortement positif à un résultat complètement négatif.

Il est évident que cette action perturbatrice ne se fait sentir que si les sérums négatifs interviennent avant le contact du sérum suspect avec l'antigène. Par contre, lorsque la fixation du complément a déjà eu lieu, l'addition d'un sérum étranger ne présente aucun inconvénient. Tel est le cas du sérum hémolytique que l'on introduit dans le deuxième temps de la réaction.

2° Le volume d'un sérum suspect introduit dans la réaction n'est sans influence sur le résultat final qu'à

la condition de tenir compte de son pouvoir anticomplémentaire et son pouvoir hémolytique naturel.

3° Quelle que soit la dose de complément introduite dans le premier temps de la réaction — entre certaines limites cependant — et en tenant compte du volume de sérum de cobaye considéré comme masse d'albumines étrangères, un même sérum fixera en présence d'une même dose d'antigène toujours la même fraction du complément initial.

Et inversement la fixation d'une même fraction de complément initial déterminera toujours le même degré d'hémolyse (dans les limites de temps prévues pour la réaction) à la condition que la dose d'hémolyse soit réglée de façon à constituer un complexe hémolytique de valeur égale à l'unité. De telle sorte, la dose initiale de complément (complément proprement dit), peut varier dans les limites assez larges sans nuire au résultat de la réaction.

4° Dans une réaction, le volume total (dilution) n'influe pas sur l'action de l'antigène. La fraction de complément détruite est en rapport avec la dose d'antigène, mais indépendante de la plus ou moins grande dilution de ce réactif.

Etude du pouvoir hémolytique naturel des sérums et de leur pouvoir anticomplémentaire

Pouvoir hémolytique naturel des sérums. — Les sérums humains sont normalement hémolytiques pour les globules de mouton. C'est d'ailleurs sur ce fait qu'est basée la réaction de Hecht.

Ce pouvoir hémolytique naturel (par abréviation P. H. N.) est dû à la présence d'une sensibilisatrice naturelle antimouton.

Pour une même dose de sérum ce pouvoir est très variable d'un sérum à un autre, et pour un même sérum d'un prélèvement à un autre. D'autre part le vieillissement, le contact prolongé du sérum et du caillot, etc., le font encore varier.

Il était intéressant de connaître la valeur de ce complexe hémolytique et les proportions de chacun des éléments qui le composent.

Rubinstein, déterminant l'index hémolytique de 1.223 sérums, obtient des index variant de 0 à 29.

Verbizier et Marchand, par contre, sur 300 cas trouvent qu'il varie de 0 à 14.

Si de plus nous comparons le pourcentage de chaque

index dans les deux séries, on trouve des discordances encore plus marquées.

C'est ainsi, par exemple, que, pour l'index 0, Rubinstein trouve 4,7 % des sérums, alors que Verbizier et Marchand trouvent 12,33 %.

Ronchèse, recherchant la teneur du sérum frais en complément et en sensibilisatrice, trouve les résultats suivants : sur 100 sérums examinés et pour 0,2 de chaque sérum le complément varie de 1/6 à 2 doses et l'hémolysine antimouton de 1/3 à 100 doses.

Pour établir ces résultats, Ronchèse emploie pour le complément une technique comparable aux méthodes *par reste* employées en chimie analytique : « Dans une série de tubes on met une dose de sérum antihumain, 0 cc. 1 de globules au 1/4, un volume de sérum tel que la quantité de complément soit inférieure à une dose; à la quantité inconnue de complément on ajoute des quantités connues et croissantes de complément de cobaye titré; on complète à 2cc. dans chaque tube avec de l'eau physiologique, et on porte à 37° la série de tubes pendant 30 minutes; au bout de ce temps on note le tube le moins riche en complément de cobaye où l'hémolyse est totale. Ce tube contient une dose de complément total; la quantité de complément naturel est déduite de celle du complément de cobaye. »

Pour doser l'hémolysine, il détermine quelle dilution de sérum hémolyse à la dose de 0,2 cc., 1 de globules de mouton au 1/4 en 30 minutes à 37° en présence de 1 dose de complément dans un volume total de 2 cc.

Nous avons, à notre tour, dosé la quantité d'hémolysine antimouton qu'on trouvait dans 0,2 de sérum humain *après chauffage à 55-56°* pendant un 1/2 heure.

Pour faire ce titrage nous avons procédé de la façon suivante : nous avons cherché à quelle dilution il fallait employer le sérum à la dose de 0,2 pour déterminer l'hémolyse de 0,1 de globules de mouton au 1/4 en une demi-heure à 37°.

Sur 180 sérums examinés, nous avons trouvé que l'hémolysine naturelle antimouton pouvait varier de 0 à 43 doses.

Au cours de nos recherches, nous avons pu relever l'existence de phénomènes assez remarquables que nous avons actuellement remis à l'étude.

Nous avons remarqué, par exemple, en faisant comparativement ces recherches sur le sérum frais et sur le sérum chauffé, que la destruction de la sensibilisatrice ne se faisait pas dans les mêmes proportions pour tous les sérums : le chauffage réduisait la valeur de l'hémolysine à presque 0 pour certains sérums, tandis que pour d'autres elle la laissait presque intacte.

Cependant, nous ne pensons pas devoir attribuer cette diminution uniquement au chauffage, mais bien aussi, pour une bonne part, au pouvoir anticomplémentaire des sérums, vis-à-vis du complément de cobaye mis en œuvre dans ces titrages. Nous verrons en effet plus loin quel intérêt il faut attacher à la connaissance de ce pouvoir anticomplémentaire qui souvent nous a permis d'expliquer des phénomènes qu'on rattachait à des causes les plus diverses.

Des 180 sérums examinés, 54 appartenaient à des syphilitiques aux diverses périodes de la maladie, et nos recherches ont été effectuées environ 4 ou 5 heures après le prélèvement.

Voici en résumé ce que nous avons retenu :

1° Les sérums positifs, en particulier ceux provenant de syphilis en évolution, étaient souvent moins riches en hémolysine que les sérums normaux.

2° Très fréquemment, le pouvoir hémolytique des sérums syphilitiques était détruit par le chauffage dans des proportions plus considérables que celui des sérums normaux.

3° Que ce chauffage paraissait en outre augmenter plus considérablement leur pouvoir anticomplémentaire que celui des sérums normaux.

D'après ce qui précède, il est facile de se rendre compte que les résultats que nous avons relatés au sujet de la valeur hémolytique des sérums ne sont que des résultats approximatifs et ne peuvent donner une idée juste de la valeur réelle de l'hémolysine. Ces résultats sont faussés, et irrégulièrement faussés, par le pouvoir anticomplémentaire des sérums (irrégulièrement parce que les proportions de complément et de sérums mis en présence sont obligatoirement variables dans les divers essais que nous avons faits).

Il était toutefois utile de se rendre compte de cette diversité de richesse d'hémolysine antimouton, afin de montrer combien les conditions dans lesquelles on pratique généralement la réaction de Bordet-Wassermann peuvent être variables et défavorables.

Nous y reviendrons d'ailleurs au chapitre « technique personnelle ».

Du pouvoir anticomplémentaire des sérums. (P. A. C.). — Le P. A. C. est la propriété qu'ont les sérums, mis en présence d'alexine de cobaye, de fixer ou de détruire, *en l'absence d'antigène*, une certaine quantité — ou la totalité — de cette alexine.

Il a été attribué par divers auteurs aux différents constituants du sérum : à la partie soluble dans l'éther (lipoïdes) (Pick et Pibram), aux albumines (Friedberg et Kumagai), enfin, et surtout, aux globulines.

Peyre, étudiant ces sérums à l'ultra-microscope, découvre dans ceux qui ont un pouvoir anticomplémentaire marqué (aussi bien que dans ceux qui sont positifs) une disposition particulière des granulations (granulations plus volumineuses) que Sciarra considère comme état caractéristique de la syphilis. D'après cet auteur, ils seraient représentés par l'autoantigène syphilitique que le sérum serait présumé contenir.

Sciarra a d'ailleurs établi, se basant sur cette hypothèse, une technique dans laquelle on n'aurait pas besoin d'introduire d'antigène hétérogène. L'intérêt de cette technique est des plus considérables, si elle corrobore l'hypothèse, car elle ouvrirait des horizons nouveaux sur le mécanisme si obscur de la réaction de Wassermann.

D'après Kahn, Malloy, etc., les sérums syphilitiques posséderaient un P. A. C. supérieur à celui des sérums normaux.

Ce P. A. C. augmenterait par le vieillissement des sérums, mais il apparaîtrait sans qu'aucune règle en puisse fixer l'évolution. C'est pourquoi il est préférable de toujours examiner les sérums dans les 24 ou 48 heures au maximum, si on ne veut s'exposer à voir apparaître ou s'intensifier ce pouvoir anticomplémentaire. Nous verrons comment on peut éviter les erreurs inhérentes à cette propriété par l'emploi de notre technique.

Pour certains auteurs, ce pouvoir ne serait pas trop prononcé pour la dose de 0 cc. 2 de sérum examiné 24 heures après le prélèvement et pratiquement négligeable.

Quant aux doses élevées, 1 cc., 1 cc. 5, 2 cc., de sérum chauffé, elles se montreraient dénuées de tout pouvoir empêchant. Nous ne pouvons pas partager entièrement ces conclusions étant donné que les résultats obtenus par l'expérimentation sur plusieurs centaines de sérums nous ont amené aux constatations suivantes :

Le P. A. C. augmente en général par le chauffage à 56°.

Les doses de 0,2 et 0,3 de sérum chauffé à 56°, entrant couramment dans la réaction de Bordet-Wassermann et de ses variantes, sont quelquefois suffisantes pour empêcher l'hémolyse des globules de mouton en présence d'une dose de complexe hémolytique suffisante pour hémolyser ces globules en l'absence de sérum. Parfois même en présence d'une dose beaucoup plus considérable.

Les doses élevées de sérum chauffé se montrent toujours plus anticomplémentaires que les doses faibles et d'autant plus que les doses sont plus élevées.

Voici d'ailleurs la technique que nous avons employée pour étudier le P. A. C.

Etant donné que le P. H. N. était une cause d'erreurs, à cause justement de sa grande variabilité d'un sérum à un autre, il était logique d'opérer sur des sérums auxquels on avait enlevé leur P. H. N. Pour cela il suffit de mettre en contact pendant une demi-heure à 37° des sérums inactivés et des globules de mouton en excès. L'hémolysine naturelle va se fixer sur les globules et une simple centrifugation nous permet ainsi d'obtenir du sérum « désensibilisé ».

Si donc avec des sérums ainsi traités on fait l'expérience suivante :

	1	2	3	4	5	etc.	6
Sérum.	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	etc.	—
Compl. titré	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1		0.1
Eau physiol., Q. S. pr 2 cmc. dans tous les tubes : 30' à 37°							
Hémolysine titrée. . .	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1		0.1
Globules mouton dilués	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1		0.1

on constate qu'il y a toujours un retard plus ou moins considérable dans l'hémolyse des tubes contenant du sérum sur celle du tube témoin n'en contenant pas.

Et ce retard est d'autant plus marqué que nous nous déplaçons vers la droite, c'est-à-dire vers les doses progressivement plus considérables de sérum. Il arrive même assez souvent que déjà aux doses de 0,3 de sérum l'hémolyse n'est qu'ébauchée et pour les doses de 0,4 et 0,5 elle est pratiquement nulle et reste telle définitivement. D'une façon générale, cette hémolyse sera retardée, souvent insuffisante, quelquefois impossible. Cette expérience nous montre bien que les sérums ont presque tous, sinon tous, un pouvoir anti-complémentaire plus ou moins marqué, et que ce pouvoir augmente avec le volume des sérums mis en jeu. Autrement dit pour un même sérum plus le rapport

$$\frac{\text{sérum pur}}{\text{complément pur}}$$

est grand, plus le pouvoir empêchant est grand. *Ceci nous permet donc de tirer cette conclusion : pour chaque sérum il y a une dose maxima par rapport au complément mis en jeu, au-dessus de laquelle, pour une même dose d'hémolysine, l'hémolyse ne peut plus se faire complètement.*

Après ces expériences, nous ne pouvons attribuer ce pouvoir empêchant qu'à une destruction ou une fixation du complément par le sérum, à moins que ce dernier ne se comporte comme protecteur vis-à-vis des globules rouges, les soustrayant ainsi partiellement ou complètement à l'action du complément, comme ceci a lieu pour certains alcaloïdes dont l'action même est annihilée ou diminuée du fait de la présence d'un sérum.

ÉTUDE DE L'ACTION COMBINÉE
DU POUVOIR HÉMOLYTIQUE NATUREL DES SÉRUMS
ET DE LEUR POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE

L'étude du pouvoir hémolytique naturel des sérums inactivés nous a montré, comme l'avait déjà vu Ronchèse pour les sérums non chauffés, que la dose d'hémolysine naturelle antimouton est très variable, pour un même volume, d'un sérum à un autre, et cette variation s'étend sur une échelle considérable allant de 0 unités à plusieurs dizaines d'unités.

Si donc nous refaisons la même expérience que précédemment, cette fois avec des sérums inactivés à 56°, mais non désensibilisés, par conséquent ayant leur P. H. N., nous constaterions ceci :

L'hémolyse n'est pas constamment retardée ou impossible, mais souvent même elle est très avancée sur le tube témoin ne contenant pas de sérum. Ceci, on s'en doute bien, n'est que la conséquence du jeu de l'hémolysine naturelle apportée par le sérum.

Cependant, il est ici à remarquer que *lorsque cette avance a lieu, elle n'a lieu en général qu'avec les doses faibles de sérum, mais qu'elle ira en diminuant au fur et à mesure que nous nous déplacerons vers les tubes contenant de plus fortes doses de sérum, jusqu'à l'un des tubes où l'hémolyse aura lieu en même temps que dans le tube témoin, pour faire place ensuite dans les*

tubes suivants à un retard et même, pour certains sérums, à une hémolyse incomplète ou nulle.

Voici l'explication que nous donnons de ce phénomène qui ne peut être attribué qu'au jeu des P. H. N. et P. A. C. des sérums : si le P. H. N. des sérums augmente parallèlement à l'augmentation de volume des sérums, le P. A. C. lui aussi augmente de la même façon; mais comme pour contrebalancer la destruction de petites doses de complément il faut des doses relativement élevées de sérum hémolytique (loi de suppléance), il est facile de concevoir que le pouvoir anticomplémentaire réduisant de plus en plus la valeur du complément, il arrive un moment où cette réduction ne peut plus être compensée par l'apport de l'hémolysine naturelle du sérum.

Un exemple nous fera mieux comprendre : Ronchèse a établi, et nous l'avons vérifié nous-mêmes, au sujet de l'interchangeabilité de certains complexes, qu'on pouvait former des complexes de même valeur avec les proportions suivantes de complément et d'hémolysine :

Compl. doses	3	2	1	1/2	1/3	1/5
Hémol. doses	1/3	1/2	1	2	5	8

Supposons donc qu'un sérum chauffé à 56° apporte avec lui une demi-dose d'H. N. pour 0,1 de sérum et que ce sérum pour la même dose ait un P. H. N. tel qu'il détruise 1/3 de dose de complément, si nous nous rapportons au tableau (page 49) nous aurons pour le premier tube contenant 0,1 de sérum :

Hémolysine, 1 dose (qui correspond à 0,1 d'hémolysine titrée) + 1/2 dose apportée par 0,1 de sérum = 1 dose 1/2.

Complément = 1 dose (0,1 de Ct de cobaye dilué) moins 1/3 de dose détruite par le pouvoir anticomplémentaire, c'est-à-dire 2/3 de dose.

Si l'hémolyse se fait encore bien avec ces doses qui entrent bien dans les proportions exigées, il n'en est plus de même du second tube qui contiendra : 2 doses d'hémolysine et 1/3 de dose de complément. En effet, d'après le tableau de Ronchèse, nous voyons que 2 doses d'hémolysine sont insuffisantes pour hémolyser les globules en présence de 1/3 de complément, mais que 5 doses d'hémolysine auraient été nécessaires.

Faisons enfin l'expérience suivante : avec plusieurs sérums formons avec chacun d'eux une série de tubes contenant :

	1	2	3	4	5	6
Sérum chauffé à 56°	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Compl. dilué.	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Eau phys., Q. S. p. un vol. de cc. dans tous les tubes : Etuve à 37° pendant 20'.						
Globules rouges dilués . . .	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Hémolysine titrée.	0	0.1	0.15	0.2	0.3	0.4

Nous constatons que dans toutes les séries de tubes,

l'hémolyse n'a pas lieu pour la même dose d'hémolysine. Pour l'un c'est le troisième tube qui hémolysera le premier au bout de la demi-heure, pour d'autres ce sera le premier, pour d'autres encore ce sera le sixième, etc.

En d'autres termes, nous dirons que pour une même dose de différents sérums, la valeur absolue, pour chaque sérum, du complexe hémolytique formé par l'hémolysine antimouton, le complément, le P. H. N. du sérum et son P. A. C. est différente d'un sérum à l'autre, *et peut être très différente.*

En définitive, nous voyons *qu'on ne peut pas régler une fois pour toutes un complexe hémolytique X applicable sans discernement à tous les sérums à examiner*, mais qu'au contraire, pour chaque sérum, il y a un complexe hémolytique optimum qui lui convient tout particulièrement, en présence duquel l'hémolyse aura lieu exactement au bout du temps prévu pour la réaction.

Doses de sérum employé dans la séroréaction. — De l'étude précédente du P. A. C., nous avons vu ce qu'il fallait en penser. Il est incontestable que plus la quantité de sérum sera considérable, plus grand sera le pouvoir anticomplémentaire et plus grandes les chances de s'exposer à des réactions trop fortement positives, quelquefois même non spécifiques.

Il faut donc choisir une dose où le pouvoir anticomplémentaire ne soit pas trop grand.

Nous avons choisi la dose de 0,2 comme étant la dose

optima pour la séroréaction de Bordet-Wassermann. Mais nous considérons que les doses de 0,1 et 0,3 peuvent être également employées, la première, surtout, dans le cas où le P. A. C. du sérum se montrerait trop élevé; (nous verrons comment on doit opérer pour s'en rendre compte au chapitre consacré à notre technique).

**Technique de Wassermann classique
et techniques dérivées.
Critiques et considérations**

Pour le détail de chaque réaction, nous renvoyons aux travaux originaux ou aux traités de sérologie.

Toutes les techniques au sérum chauffé peuvent se ramener aux quatre types suivants :

(Les trois premiers sont empruntés à Rubinstein.)

Type I : Dose fixe de sérum : 0,2.

Doses décroissantes d'antigène : 0,3; 0,2; 0,1 (à volonté).

Dose d'alexine au 1/10 dose unique : l'une des doses optima suivant le titrage du jour.

Globules à 5 % sensibilisés suivant le titrage à 2 unités 1/2 : 1 cc. dans tous les tubes.

(Technique de Wassermann)

Type II : Dose fixe de sérum : 0,2.

Dose fixe d'antigène : 0,3.

Doses croissantes d'alexine au 1/10 : 0,3; 0,35; 0,4; 0,5, etc.

Globules à 5 % sensibilisés à 2 unités 1/2.

(Technique de Calmette et Massol.

Voyez traité.)

Type III : *Doses décroissantes de sérum* : 0,2; 0,1;

0,05; 0,025; 0,02 de sérum dilué 10, 20, 30..., 100 fois.

Dose d'alexine fixe : 0,3 ou 0,35 ou 0,4.

Dose d'antigène fixe : 0,2.

Globules sensibilisés à 2 unités 1/2.

(Technique de Bordet-Ruelens.)

Type IV : Dose fixe de sérum : 0,2 ou 0,3.

Dose d'alexine fixe : 0,04 ou 0,033.

Dose d'antigène fixe : 0,2.

Dose de globules fixe : 0,1 au 1/4 ou 1 cc.
à 5 %.

Doses croissantes d'hémolysine en partant de 0 : 0,05; 0,1; 0,15; 0,2, etc.

(Technique de Weimberg.

Technique de W. Lévy.)

Après les considérations du chapitre précédent, si nous envisageons la réaction de Wassermann type et toutes les techniques au sérum chauffé, nous constatons que dans aucune, à l'exception de celle de Ronchèse au *sérum antihumain*, le complexe hémolytique n'est employé en tenant compte du pouvoir anticomplémentaire et du pouvoir hémolytique du sérum à examiner.

Or nous avons vu précédemment combien était variable la quantité d'hémolysine naturelle contenue dans un même volume de sérum. Pour cette raison, il est évident qu'il entrera des doses insoupçonnées d'hémolysine, parfois considérables, dans une réaction de Bordet-Wassermann faite par les techniques habituelles.

La plupart des auteurs ne tiennent pas compte de ce P. H. N. Bien plus, ils emploient des quantités d'hémolysine antimouton trop fortes : 2-3 fois (Rubinstein), 15-20 fois (Calmette et Massol), etc., la dose hémolytique suffisante, déterminée par le titrage préalable, ce qui fatalement augmente les causes d'erreurs.

« Pratiquement, dit Rubinstein, l'emploi du sérum hémolytique lapin antimouton d'un titre élevé rend négligeable la force de la sensibilisatrice naturelle, surtout si la durée de l'hémolyse ne dépasse pas 30 minutes. »

Ceci est incontestable, mais ce qui est évident, c'est qu'un sérum hémolytique antimouton d'un titre très élevé, employé en excès, peut apporter de graves erreurs dans la réaction, erreurs dues justement à ces excès de sensibilisatrice donnant des résultats trop faibles ou faussement négatifs.

En effet, si nous considérons un sérum n'ayant presque pas de pouvoir anticomplémentaire, mais un P. H. N. élevé, lorsqu'on ajoutera l'hémolysine antimouton en excès, ce sérum aura un complexe hémolytique trop élevé. Supposons que ce sérum soit positif, qu'il y ait fixation spécifique *d'une fraction* de

complément : avec un complexe hémolytique bien proportionné, il y aurait absence d'hémolyse ou hémolyse partielle; mais l'excès d'hémolysine en présence du complément *résiduel* pourra, d'après la loi de suppléance, déterminer l'hémolyse complète et le résultat sera négatif. Ceci a souvent lieu par exemple dans la technique de Calmette et Massol, où il entre 2 doses de complément et 15 à 20 fois la proportion minima de sérum hémolytique.

D'autres méthodes font intervenir un complexe hémolytique moyen (2-3 unités d'hémolysine lapin-antimouton); dans ce cas, on peut quelquefois ne pas éviter des résultats faussement positifs ou impossibles. D'autre part, cette façon d'opérer ne met pas en définitive complètement à l'abri des inconvénients des réactions employant des doses élevées d'hémolysine.

En effet, étant donnée la variabilité du P. H. N. et du P. A. C. d'un sérum, il résulte que la valeur du complexe hémolytique formé par le complément résiduel d'une part (complément restant efficace, après destruction d'une fraction du complément initial par le P. A. C.) et par le P. H. N. d'autre part, est très différente d'un sérum à un autre. Par conséquent, ce complexe hémolytique se surajoutant à l'action de l'hémolysine antimouton introduite dans la réaction dans le but de sensibiliser les globules de mouton, la valeur du complexe hémolytique définitif pour les différents sérums sera très inégale. (Voyez p. 54).

Ainsi, par exemple, dans le cas d'un sérum à P. A. C. très marqué et à P. H. N. nul, lorsque l'on aura ajouté

l'hémolysine antimouton, cette hémolysine pourra être insuffisante pour déterminer en présence du complément résiduel l'hémolyse des globules, et dans certaines conditions faire croire à un résultat positif, alors qu'il s'agit d'un sérum négatif.

Par contre, lorsqu'on aura à faire à un sérum à P. A. C. insignifiant mais à P. H. N. très fort, lors de l'addition de sensibilisatrice lapin-antimouton, le complexe hémolytique deviendra trop considérable, et nous retombons dans la catégorie des techniques à complexe hémolytique trop fort.

Bien plus, étant donnée la grande variabilité du P. H. N. et du P. A. C. d'un jour à l'autre pour un même sérum, et suivant leur combinaison du jour, nous pourrions pour ce même sérum trouver à quelques jours d'intervalle soit un résultat positif, soit un résultat négatif.

Enfin, pour les techniques qui, voulant parer aux inconvénients des complexes hémolytiques trop forts, emploient des doses trop faibles d'hémolysine, comme c'est le cas pour la réaction de Bauer, qui n'emploie que le P. H. N. des sérums, il arrive qu'avec ces techniques on obtienne des résultats positifs non spécifiques, pour les mêmes raisons que nous avons indiquées au sujet des sérums à P. A. C. très élevé.

Weimberg, dans une réaction, a essayé de tenir compte du pouvoir hémolytique naturel des sérums, mais la réaction est compliquée, exige des titrages préalables pour chaque sérum et la préparation de dilutions de sérum hémolytique correspondant à 5, 10,

15, 20, 25 et 30 unités. En définitive, sa technique essaie d'égaliser les valeurs du complexe hémolytique plutôt que de rechercher à adopter la dose optima nécessaire à l'hémolyse des globules mis en jeu.

Il existe une technique dite « de désensibilisation » qui permet d'examiner un sérum dépourvu de complément et d'hémolysine naturelle. Mais cette méthode exige des manipulations spéciales qui allongent considérablement l'opération, surtout lorsqu'on est obligé d'examiner 30 ou 40 sérums en même temps. Il n'en reste pas moins vrai qu'en dehors de ces inconvénients, cette réaction reste la meilleure et la plus sensible de toutes, sans cependant jamais donner des résultats aspécifiques.

Entre les mains de Jacobaeus, nous dit Rubinstein, cette méthode donne sur 80 sérums les résultats suivants :

10 réactions négatives par la méthode de Bordet-Wassermann et par la méthode de désensibilisation : ces sérums appartenaient à des non syphilitiques.

Sur les 70 autres appartenant à des syphilitiques pour la plupart traités, il obtient :

38 réact. positives par le Bordet-Wassermann, soit 54 %;

53 réact. positives par la désensibilisation, soit 76 %, soit une différence de 22 % en faveur de cette dernière.

Rossi, Rubinstein, nous-même, avons toujours eu des résultats supérieurs par cette méthode que par les méthodes couramment employées.

Or, si nous examinons de près les causes de la supé-

riorité de cette technique sur les autres, nous ne pouvons l'attribuer qu'à un usage plus judicieux du complexe hémolytique, puisque le P. H. N. n'entre plus en jeu et que d'autre part il est fatalement tenu compte du P. A. C. Les autres opérations : inactivation, désensibilisation par les hématies ne sont pas suspectes d'ajouter des facteurs susceptibles de renforcer les résultats.

Nous voyons donc combien une réaction pourrait gagner en sensibilité et en spécificité, en opérant en présence d'un complexe hémolytique bien proportionné.

Pour cela, il faut un dosage exact du P. H. N. et du P. A. C. pour pouvoir en tenir compte dans la constitution du complexe hémolytique définitif entrant en jeu dans la réaction proprement dite. Pour chaque sérum, suivant la valeur de ses pouvoirs anticomplémentaire et hémolytique naturels, il y aura à adopter une dose de complexe hémolytique optima, et qui sera variable d'un sérum à un autre.

Technique personnelle au sérum chauffé

Nous présentons ici une technique permettant de déterminer automatiquement la quantité exacte de complexe hémolytique convenant particulièrement à chaque sérum et ceci sans perte de temps et sans manipulations supplémentaires.

Avant de donner la marche à suivre de notre technique, il est utile de se rendre compte de la raison de certaines de ses particularités, qui, de prime abord, pourraient paraître arbitraires.

Complément. — Nous utilisons le mélange du sang de 3 ou 4 cobayes mâles, à jeun. Ce sang est extrait par ponction cardiaque. Après séparation du caillot, le sérum est mélangé à de l'eau physiologique dans les proportions de 40 de sérum de cobaye, pour 60 d'eau physiologique (la dilution de 30 pour 70 est aussi très suffisante dans la majorité des cas).

0,1 de ce mélange représente 0,04 de sérum pur de cobaye et nous employons cette dilution à la dose unique de 0,1 dans tous les tubes de la réaction.

Le mélange du sérum de plusieurs cobayes a l'avantage de donner un « sérum-moyenne » ayant très approximativement la même richesse en complément.

D'autre part, l'emploi de la dose unique dans tous les tubes est fondée sur les considérations suivantes : d'après l'étude que nous avons faite des divers éléments de la réaction et de leur action réciproque, nous savons qu'un sérum négatif étranger introduit dans le premier temps de la réaction est un facteur de neutralisation. Ce sérum, masse d'albumines en équilibre, tend à corriger le déséquilibre des albumines existant dans un sérum syphilitique. Ronchèse a d'ailleurs montré à l'appui de son hypothèse qu'on pouvait toujours négativer un sérum positif par simple addition d'un sérum négatif humain ou animal.

Or, pour que les résultats de réactions, effectuées à quelque temps d'intervalle, soient comparables entre eux, il faut que l'élément perturbation apporté par le complément, en qualité d'albumine en équilibre, soit identique dans toutes les réactions. D'autre part, plus cet élément perturbateur sera réduit, plus la réaction sera sensible. Il faut donc employer la plus petite dose de complément suffisante pour permettre l'hémolyse. La dose que nous employons peut donc sembler, *a priori*, un peu forte.

Mais, de notre pratique et de l'expérimentation sur plusieurs milliers de sérums, nous avons constaté que des doses inférieures étaient parfois susceptibles d'être complètement détruites par le pouvoir anticomplémentaire de certains sérums.

Par ailleurs, nous savons (voyez p. 50) que plus le rapport

sérum pur

complément pur

était grand, plus grand était le pouvoir empêchant.

Il fallait donc choisir une dose de complément satisfaisant à tous ces desiderata.

Evidemment, on pouvait songer à employer des doses plus faibles mais croissantes de complément, comme cela se passe dans la réaction de Calmette et Massol, et ne tenir compte que des tubes où la dose de complément a vaincu le pouvoir anticomplémentaire. Mais dans ce cas, nous aurions eu affaire à des doses dissemblables de sérum de cobaye et, partant, à des neutralisations plus ou moins considérables. Par exemple, un sérum examiné aujourd'hui permettra une lecture avec 0,6 de complément; ce même sérum, examiné à quelque jours d'intervalle, permettra cette même lecture avec 0,1. Dans les deux cas, le pouvoir neutralisant du sérum de cobaye est différent et la comparaison des résultats devient inexacte. Car si 0,1 produit une neutralisation légère insignifiante, la dose de 0,6 peut être quelquefois suffisante pour neutraliser assez un sérum positif limite ou partiellement positif pour les négativer en partie ou complètement.

Pour toutes ces raisons, nous avons retenu la dose de 0,04 de complément (ou 0,1 à 40 pour 60) qui par ailleurs est conseillée par Ronchèse et Rubinstein comme étant la dose optima et susceptible de donner toujours des résultats.

Hémolysine. — L'hémolysine est titrée par les méthodes habituelles. On retient la dilution qui, sous le volume de 0,1, hémolyse les globules en 1/2 heure en présence de 0,1 de complément. Cette quantité représente 1 dose d'hémolysine.

Après l'action du sérum, la quantité du complément résiduel, efficace, sera différente suivant le P. A. C. du sérum. Pour suppléer à cette diminution variable, il faudra des doses variables d'hémolysine antimouton pour ramener à la valeur optima le complexe hémolytique définitif.

Antigène. — Les antigènes que nous employons sont des antigènes alcooliques de foie hérédo-syphilitique et des antigènes ne contenant que des lipoïdes d'organes précipités par l'acétone, titrés par les méthodes classiques, et vérifiés sur de très nombreux sérums. Dans la réaction, il est employé à la dose unique de 0,2 parce que nous jugeons qu'une dose d'antigène éprouvé et bien titré est préférable aux doses croissantes susceptibles de provoquer, pour les fortes doses, des fixations non spécifiques.

Eau physiologique. — 9 de NaCl pour 1.000 d'eau distillée neutre.

Globules de mouton. — Les globules de mouton sont lavés et centrifugés autant de fois qu'il est nécessaire jusqu'à l'obtention d'un liquide surnageant, parfaitement limpide et incolore. En général 3 lavages sont

suffisants. On l'emploie à la dilution de 1 de globules, en partant du culot de centrifugation, pour 3 d'eau physiologique, et à la dose de 0,1, dans tous les tubes. (On peut aussi employer la dilution de 1 de globules pour 4 ou 5 d'eau).

Sérum à examiner. — Prélevé dans des tubes assez larges, de 2 cm. de diamètre, pour faciliter le décollement et la contraction du caillot, le sérum est décanté et examiné dans les 24 heures, ou au plus tard dans les 36 heures.

Dans la réaction, il est employé inactivé. (Chauf-fage à 56° pendant 10 minutes au bain-marie) à la dose de 0,2. (On peut aussi employer la dose de 0,3 en particulier pour les sérums ayant donné des résultats douteux. Cette dose plus élevée a l'avantage d'être moins neutralisée par 0,04 de sérum de cobaye que la dose 0,2).

Réaction proprement dite. — En résumé, les caractéristiques de la réaction sont les suivantes :

Complément : dose unique 0,1 à 40 pour 60.

Sérum à examiner : dose unique 0,2 ou 0,3.

Antigène titré ayant fait ses preuves : dose unique 0,2.

Hémolysine lapin-antimouton titrée : *doses croissantes* : 0 dans le 1^{er} tube, 1/2 dose dans le 2^e, 0,1; 0,15; 0,2; 0,3 dans les suivants. (On peut aussi adopter 4 ou 5 tubes avec 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4).

Globules de mouton : dose unique 0,1 de globules

de mouton au 1/4 ou 1/5 en partant du culot de centrifugation.

Voici d'ailleurs le tableau résumant la réaction :

A						B						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Eau physiologique .	1.4	1.35	1.3	1.2	1.1	1.0	1.6	1.55	1.5	1.4	1.3	1.2
Complém. dilué . .	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Sérum suspect. . .	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Antigène titrée. . .	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	—	—	—	—	—	—
Une demi-heure à l'étuve à 37°												
Hémolysine anti-mouton titrée	—	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	—	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
Globules de mouton au 1/4. .	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Etuve à 37° pendant 20' à une 1/2 heure.												

Lecture des résultats. — Nous voyons que les tubes B ne représentent qu'un titrage nous permettant de choisir le premier tube où l'hémolyse totale a eu lieu au bout de la demi-heure. Supposons pour fixer les

idées que ce soit le premier tube (ce pourrait être le 1^{er}, le 2^e, le 4^e, etc.).

Or, que représente ce tube, sinon celui où la dose minima d'hémolysine lapin-antimouton qui, ajoutée au P. H. N. du sérum, a eu raison du P. A. C.

Autrement dit, ce tube contient la valeur d'un complexe hémolytique nécessaire et suffisant pour déterminer l'hémolyse des globules dans le temps prévu pour la réaction.

Le résultat se lira alors en comparant ce 3^e tube avec le 3^e tube de la série A, qui est son correspondant et n'en diffère que par la présence de l'antigène.

Pour figurer la lecture, on peut comparer les tubes suivants, 4^e, 5^e et 6^e. De cette comparaison, on pourra souvent tirer des renseignements utiles sur les qualités du sérum et sur l'intensité de sa positivité.

Dans le cas d'un sérum nettement positif, alors que tous les tubes à partir du 3^e sont complètement hémolysés, les tubes à réaction de la série A n'auront pas hémolysé.

Dans le cas d'un sérum positif limite: alors que le 3^e tube B est hémolysé ainsi que les 4^e, 5^e, etc., le 3^e tube A n'aura pas hémolysé, les tubes 4, 5, A etc., présenteront une hémolyse légère, incomplète et progressive.

Dans le cas d'un sérum partiellement positif, il y aura une différence nette entre l'hémolyse du 3^e tube A et 3^e B et d'autant plus accentuée que le sérum sera plus positif. Les tubes suivants A seront, les pre-

Les cinq derniers tubes nous renseigneront, suivant le retard de l'hémolyse dans ces tubes par rapport à celle des 3 tubes A, sur la valeur antialexique de l'antigène.

Souvent, on constatera un décalage de un tube; par exemple : l'hémolyse se fera dans le 2^e tube B alors qu'elle aura lieu dans le premier des tubes témoins A.

En général, avec un bon antigène bien titré ce décalage ne doit jamais dépasser un tube.

Assez souvent les antigènes ne donnent même pas de décalage.

Ce titrage va nous être utile pour la réaction. Connaissant ce décalage, nous en tiendrons compte lors de la lecture des résultats en décalant les tubes témoins de un. De la sorte, le tube 1 de la série B correspondra au tube 2 de la série A, etc., ce qui nous évitera de prendre pour partiellement positif un retard dans l'hémolyse dû uniquement au pouvoir antialexique de l'antigène.

Ce titrage du pouvoir anticomplémentaire se fait une seule fois en même temps que toute une série de réactions, de sorte qu'il n'entraîne pas de perte de temps.

Cas particuliers. — Il est tout à fait exceptionnel que, dans les conditions de la réaction, l'hémolyse ne se produise pas dans un des tubes témoins.

En général elle est déjà avancée vers le 9^e et est franche dans les tubes suivants. Il est très rare qu'elle ait lieu dans le 7^e et qu'elle y soit complète — de même

qu'il est très rare que l'hémolyse n'ait pas lieu au moins dans le dernier tube.

Dans cette dernière éventualité deux cas sont à considérer :

a) Le sérum est doué d'un pouvoir anticomplémentaire assez considérable et la destruction du complément est telle que le complément résiduel est dans l'impossibilité de provoquer l'hémolyse en présence de la dose d'hémolysine mise en jeu. Or le dernier tube contient 0,3 d'hémolysine soit 3 doses. Pour que l'hémolyse soit impossible il faut que le complément (qui était égal à l'unité) ait été réduit par le P. A. C. de plus de moitié (d'après le tableau des complexes de même valeur, voyez p. 38). Dans ce cas il suffit d'ajouter dans tous les tubes une nouvelle quantité d'hémolysine et remettre à l'étuve.

b) Malgré l'addition de 3 ou 4 unités d'hémolysine, l'hémolyse n'a pas lieu. Le dernier tube contient alors 6 à 7 unités hémolytiques. Le complément est donc réduit à peu près au $\frac{1}{5}$ de sa valeur initiale. La dose de complément résiduel est donc tombée presque à la limite au-dessous de laquelle la réaction n'aura plus lieu même en présence d'excès d'hémolysine.

Dans ces cas (tout à fait exceptionnels : 2 fois sur 1.500 examens) la réaction est impossible et le serait par n'importe quelle technique.

On pourrait recommencer la réaction en utilisant une technique employant des doses croissantes de

complément. Mais dans ce cas il faudrait employer des doses considérables de sérum de cobaye, ce qui ne serait pas sans nuire à la bonne marche de la réaction (action du sérum étranger dans le premier temps de la réaction voyez p. 41).

Le mieux est de recommencer une nouvelle prise de sang et d'effectuer la réaction dans les 12 ou 24 heures qui suivent le prélèvement.

Autre éventualité très rare : l'hémolyse a lieu en moins d'une demi-heure dans tous les tubes témoins. Deux cas sont à considérer :

a) L'hémolyse s'est produite en moins de 10 minutes, un quart d'heure (éventualité exceptionnelle); dans ce cas le complexe hémolytique est trop fort et l'on court le risque d'avoir *des résultats trop faibles*. Cela est dû à la trop grande richesse du sérum en hémolysine.

Il faut alors recommencer la réaction en employant des doses plus petites de sérum (par dilution).

b) L'hémolyse s'est produite après un quart d'heure, 20 minutes. Les résultats sont dans ce cas acceptables, car pratiquement ils ne diffèrent pas de ceux qu'on obtiendrait si on recommençait la réaction de façon à n'obtenir l'hémolyse qu'au bout de la demi-heure. Dans le cas où malgré l'hémolyse des tubes témoins, l'hémolyse des tubes à réaction était nulle et restait telle pendant la demi-heure, la réaction serait fortement positive et il ne serait pas nécessaire de recommencer les opérations précédentes.

Dans la pratique courante les 2^e et 4^e tubes sont d'une utilité secondaire et l'on peut adopter une disposition exigeant moins de tubes — par exemple 8 à 10 tubes n'employant que les doses d'hémolysine : 0; 0,1; 0,2; 0,3 ou 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4.

Technique simplifiée

Nous avons imaginé une technique simplifiée qui n'utilise que deux tubes : l'un témoin et l'autre à réaction. Le tube à réaction contient 0,2 de sérum, 0,2 de complément et 0,2 d'antigène, le deuxième les mêmes éléments moins l'antigène. Dans les deux : eau physiologique 1,6 et 1,8.

On laisse les deux tubes à l'étuve une demi-heure à 37°.

On ajoute ensuite 0,1 de globules et on remet à l'étuve.

Si au bout de dix minutes aucune ébauche d'hémolyse ne se dessine dans le tube témoin qui laisse prévoir une hémolyse totale au bout de la demi-heure (ceci s'acquiert avec la pratique) on ajoute une demi-dose ou 1 dose d'hémolysine antimouton dans les deux tubes. On attend encore 10 minutes. Si au bout de ce temps l'hémolyse est assez avancée pour qu'on puisse prévoir l'hémolyse au bout d'une demi-heure, on laisse les tubes à l'étuve et on fait la lecture au bout de ce temps. Sinon on ajoute une nouvelle quantité d'hémolysine et ainsi de suite.

Cette technique ramène en définitive à la technique

non simplifiée; en effet nous ne faisons, par tâtonnements, que reproduire, *mais successivement*, les valeurs du complexe hémolytique des différents tubes : 1 et 7; 2 et 8, etc., du tableau.

Cette réaction a cependant l'inconvénient d'être souvent d'une durée plus longue, et du fait des additions successives, de présenter moins de netteté et de précision que l'autre technique. Il faut d'autre part avoir une grande habitude de la réaction et être familiarisé avec les phénomènes d'hémolyse pour juger s'il faut oui ou non ajouter les nouvelles doses d'hémolysine. Nous la déconseillons donc aux débutants.

Entre des mains très expérimentées, elle a donné des résultats comparables à très peu de chose près à la technique originelle. Cependant nous ne la conseillons aux sérologistes très habiles que dans les cas où pour une raison ou pour une autre ils se trouvent dans l'impossibilité de pratiquer la première technique (par exemple quantités trop réduites de sérum à examiner, insuffisance de matériel, etc.).

Réactions au sérum non chauffé

Le sérum humain est normalement hémolytique pour les globules de mouton.

En partant de cette notion, Bauer (1908), le premier, eut l'idée d'utiliser cette propriété et d'éviter ainsi dans les réactions de Wassermann, l'emploi d'un sérum hémolytique préparé. Mais sa technique comportait le chauffage du sérum à examiner, puisqu'il fallait détruire le complément naturel et le remplacer par du sérum de cobaye.

Hecht, en 1908, emploie le complément naturel du sérum, apportant ainsi une grande simplification à la technique de Wassermann. A cause justement de cette facilité d'exécution, cette réaction va prendre bientôt un développement et une extension considérables.

Cependant, telle qu'elle est conçue et appliquée par cet auteur, elle est trop imparfaite, le complexe hémolytique naturel des sérums étant trop variable.

Rubinstein, Ronchèse et nous-mêmes, en étudiant les proportions du complexe hémolytique et de ses constituants, d'une part par le dosage du complexe hémolytique, d'autre part par le dosage du complément et l'hémolysine de différents sérums, avons pu constater

l'étendue des limites de ces différents éléments. L'index hémolitique varie entre 0 et 29, le complément de 0 à 2 unités et la sensibilisatrice antimouton de 0 à 100 unités.

Une gamme aussi variable de complexes hémolitiques entraîne fatalement des inexactitudes dans les réactions. Il est facile de comprendre qu'un sérum à faible complexe hémolitique pourra ne pas donner de résultat, parce qu'incapable de déterminer l'hémolyse des globules mis en jeu, d'où impossibilité de lecture de la réaction. Bien plus, si le complexe est juste suffisant pour provoquer cette hémolyse, il pourra arriver qu'un antigène, un tant soit peu anticomplémentaire, détruisant une partie de l'alexine, rendra le complexe insuffisant et l'hémolyse ne se fera plus dans le tube à réaction, alors qu'elle aura encore lieu dans le tube témoin, d'où résultat faussement positif.

Par contre, un sérum riche en hémolysine et en complément pourra masquer une réaction positive (ou mieux une réaction *positive limite*) parce que l'*excès* de sensibilisatrice, en présence du complément résiduel, déterminera l'hémolyse.

Pour parer justement à ces inconvénients, une foule de techniques a pris naissance depuis, qui a essayé de corriger ces imperfections.

QUALITÉS ET DÉFAUTS DES TECHNIQUES AU SÉRUM
NON CHAUFFÉ

La première de toutes les qualités réside dans leur plus grande sensibilité. Il est incontestable qu'elles sont capables de donner des réactions positives dans le cas de syphilis avérée, alors que les techniques au sérum chauffé restent muettes.

Ceci dépend de la labilité plus ou moins grande de certains anticorps syphilitiques qui sont, sinon complètement détruits, tout au moins réduits par le chauffage à 56°. Il est cependant utile d'ajouter que tous les anticorps syphilitiques ne sont pas aussi thermolabiles et qu'il en existe sur qui le chauffage n'agit pas.

Busila a pu en effet classer les sérums en trois catégories :

1° Les sérums, même faiblement positifs, dont le pouvoir spécifique n'est pas diminué par l'inactivation.

2° Les sérums qui sont rendus moins fortement positifs par le chauffage à 56°.

3° Les sérums même fortement positifs qui, après cette opération, deviennent négatifs.

D'après cet auteur, la sensibilisatrice syphilitique existerait sous deux états : un état thermolabile et un état thermostable, et les sérums positifs auraient soit uniquement l'un ou l'autre de ces anticorps, soit un mélange des deux variétés.

La présence exclusive de ces anticorps thermolabiles se constaterait surtout au début de la syphilis, dans les syphilis traitées en voie de guérison et dans les syphilis anciennes en voie d'atténuation. Ceci expliquerait pourquoi le Wassermann dans ces circonstances est souvent négatif, alors que le Hecht reste positif.

De là l'utilité et la supériorité incontestables sur les techniques au sérum chauffé.

Nous verrons d'ailleurs plus loin le pourcentage considérable de réactions positives, dans le cas de syphilis indubitables que nous obtenons avec le Hecht (notre modification) alors que le B.-W. reste complètement silencieux.

Pour certaines séries de malades (début de la syphilis ou au cours d'un traitement intensif et bien conduit) la proportion des positivités en faveur du Hecht atteint jusqu'à 48 % !

On a reproché à la réaction de Hecht de n'être pas aussi rigoureusement spécifique que celle de Bordet-Wassermann, et on a attribué ce défaut à deux causes : d'abord à une plus grande labilité des globulines (labilité qui disparaît par le chauffage à 56°) et surtout à la difficulté du titrage et du contrôle des composants du complexe hémolytique naturel du sérum, ainsi que l'impossibilité de juger du pouvoir anticomplémentaire de l'antigène.

Nous verrons ce qu'il faut penser de la première cause. Nous signalerons seulement, pour l'instant, que les fixations non spécifiques de complément imputables à cette labilité des sérums peuvent être facilement

différenciées des fixations spécifiques. Les premières sont variables dans leur intensité et leur constance, les secondes sont constantes et invariables.

Quant à la seconde cause, nous pensons, comme Ronchèse, que le complément ne se fixe sur un *bon antigène* que s'il y a dans le sérum qui lui sert de véhicule des substances se comportant comme des anticorps.

Voici, d'ailleurs, comment Ronchèse s'y prend pour le démontrer : un certain nombre de sérums ayant donné des résultats dissociés avec le Wassermann et le Hecht sont *inactivés biologiquement*; c'est-à-dire qu'on détruit leur complément naturel en l'engageant dans une réaction de fixation préalable. En d'autres termes, on met en présence du sérum à examiner des hématies humaines sensibilisées par un sérum antihumain. Par tâtonnement, on arrive à déterminer les conditions permettant une fixation presque totale de l'alexine en un temps assez court pour n'avoir pas d'hémolyse. On centrifuge et on se sert du sérum ainsi dépourvu de son complément. On remplace alors le complément du sérum par un complément de cobaye vérifié et on pratique sur lui la réaction du Wassermann.

Avec de très nombreux sérums n'ayant que des anticorps thermolabiles, Ronchèse obtient un pourcentage considérable de réactions positives.

Cependant, quelques réactions ont donné des résultats négatifs par cette technique, alors qu'elles étaient positives par la technique au sérum antihumain. Mais

Ronchèse attribue ces résultats à l'action neutralisante du sérum de cobaye sur des sérums pauvres en anticorps syphilitiques.

Ces expériences ont été reprises par nous avec quelques modifications dans la technique.

Au lieu d'employer du sérum antihumain pour déterminer l'« inactivation biologique » du sérum à étudier, nous nous sommes servis de sérum antimouton. Les globules de mouton, sensibilisés, sont ajoutés en excès dans le sérum.

Nous savons que la fixation de l'alexine est très rapide, sinon instantanée. Nous avons pu ainsi, par centrifugation, récupérer la presque totalité des globules. Nous obtenions de la sorte un sérum limpide, dépourvu de complément et de sensibilisatrice antimouton.

Nous avons aussi obtenu cette inactivation biologique en déterminant, suivant les expériences de Gen-gou, la précipitation de l'alexine par addition au sérum soit de sulfate de baryte, soit de kaolin.

Sur les sérums préparés de l'une ou de l'autre façon, nous avons alors effectué des réactions de Wassermann, en ajoutant du complément de cobaye dont nous connaissions toutes les caractéristiques.

Comme Ronchèse, nous avons généralement obtenu des résultats positifs.

Enfin, pour étudier le complément même du malade, après avoir éliminé les anticorps thermolabiles, Ronchèse fait l'expérience suivante : après avoir chauffé à 50° pendant 20 minutes les sérums à examiner, il

constate que la quantité de complément a beaucoup diminué, mais qu'il en restait suffisamment pour pouvoir, en présence de doses correspondantes d'hémoly-sine, déterminer encore l'hémolyse de globules de mouton. Ces sérums, traités par la méthode de Bordet-Wassermann, donnent souvent des réactions négatives. Ces deux expériences prouvent que le complément n'est pas destructible par l'antigène seul, mais bien qu'il existe des anticorps spécifiques que le chauffage rend inactifs.

Le vieillissement des sérums, par ailleurs, agit comme le chauffage à 50°.

On peut donc conclure avec cet auteur, qu'il existe des anticorps thermolabiles que le chauffage rend inactifs, et *que seule une réaction au sérum non chauffé* peut mettre en évidence.

ANTIGÈNES A EMPLOYER DANS LA RÉACTION AU SÉRUM NON CHAUFFÉ

Bien plus que pour les réactions au sérum chauffé l'antigène doit être particulièrement étudié.

Étant donné que dans les réactions au sérum frais il est impossible de se rendre compte directement du pouvoir anticomplémentaire de l'antigène; étant donné d'autre part, que beaucoup de sérums normaux frais, de par leur état biochimique ou physico-chimi-

que seraient capables, avec certains antigènes, de fixer le complément aspécifiquement, il faut redoubler d'attention, multiplier les épreuves, et ne s'arrêter qu'à un antigène ne donnant pas de fixation pratiquement sensible avec des sérums normaux. Ces antigènes existent; mais il faut les découvrir, et pour cela, aucune règle n'existe qui le permette à coup sûr. Ce choix se fait empiriquement, après de multiples essais sur des sérums connus et par comparaison avec d'autres antigènes éprouvés.

C'est ainsi que dans le cours de ces essais on s'apercevra qu'un même sérum, en présence de divers antigènes ayant fait leurs preuves dans les réactions au sérum chauffé, peut donner des résultats tout à fait irréguliers : positifs avec les uns, négatifs avec les autres.

Cependant, un fait pourra nous aider dans le choix d'un antigène et réduire les risques de cette « *fixation protéotropique de l'alexine* » (Noguchi) : c'est l'emploi d'antigènes ne contenant que la fraction de lipoïdes d'organes insolubles dans l'acétone. D'après Noguchi, on n'obtiendrait jamais de fixations aspécifiques avec un tel antigène. Il est toutefois prudent de ne pas trop prendre à la lettre cette assertion et de ne se fier qu'à des antigènes longuement éprouvés; ce qui ne saurait être fait que si les laboratoires sont en rapport constant avec un service de syphiligraphie permettant, à l'aide de sérums tests, dont on connaîtrait toutes les caractéristiques, de multiplier les essais comparatifs donnant ainsi le maximum de garanties.

D'une façon générale, dans toute réaction au sérum frais, il faut éviter autant que possible l'action de l'alcool sur l'alexine. Il faudra donc n'employer que des antigènes se prêtant à de grandes dilutions : de 1/20 à 1/30 (Rubinstein), afin d'annuler l'action de l'alcool, ou bien recourir aux antigènes à l'éther (Lesser), ou encore aux antigènes, qui, comme celui de Bordet-Ruelens, s'emploient après leur évaporation par un séjour à l'étuve.

Il faut éviter les antigènes cholestérinés à cause de leur pouvoir anticomplémentaire trop élevé.

Une fois ces précautions prises, il faudra soumettre l'antigène à deux épreuves primordiales :

1° Obtenir la dilution nécessaire de l'antigène qui laisse intact le pouvoir hémolytique des sérums négatifs.

2° Rechercher la dose optima qui détermine des réactions positives avec des sérums sûrement syphilitiques.

Pour ces recherches, on placera dans une dizaine de tubes 0,1 des dilutions croissantes de l'antigène à 1/5 1/10 1/20, etc.; on ajoutera les mêmes quantités de sérum et d'eau physiologique que celles qu'on emploiera dans la technique adoptée. Dix autres tubes témoins contiendront la même dose de sérum que les précédents + de l'eau physiologique (même quantité que dans les dix premiers tubes + 0,1 pour remplacer l'antigène absent). On portera à l'étuve à 37° pendant une demi-heure. On ajoutera ensuite la même dose

de suspension globulaire (même dose que celle employée dans la réaction finale).

En d'autres termes, on a mis en présence de diverses dilutions d'antigène les doses de sérum, d'eau physiologique et de globules que nous emploierons dans la recherche proprement dite.

De l'étude comparative des dix premiers tubes et des dix témoins nous pourrons déduire le pouvoir antialexique des antigènes. On retiendra la dernière dilution dépourvue de pouvoir anticomplémentaire.

Supposons que ce soit la dilution au 1/10 (les dilutions au 1/20, 1/30, etc., sont encore moins anticomplémentaire). Dans la réaction nous pourrons donc employer la dilution au 1/10 ou *a fortiori* n'importe quelle autre dilution au-dessous 1/10, 1/20, etc.). Laquelle allons-nous employer?

Pour cela on mettra en présence de plusieurs sérums sûrement syphilitiques, négatifs et partiellement positif (connus à l'avance et fréquemment contrôlés), les différentes dilutions non anticomplémentaires établies par le premier titrage.

On choisira la dilution qui aura donné les meilleurs résultats.

Plus grand sera l'écart entre la dose anticomplémentaire et la dose sensible, meilleur sera l'indice de la qualité de l'antigène.

Il ne faut pas se cacher que l'établissement d'un bon antigène n'est pas toujours chose facile; il faut souvent en rejeter plusieurs avant de pouvoir en retenir un satisfaisant. Encore faut-il le reprendre maintes

fois et l'essayer comparativement avec d'autres antigènes ayant fait leurs preuves, avant de tabler, sur les résultats obtenus avec lui. Il faut surtout qu'il n'ait jamais donné que des résultats négatifs avec de très nombreux sérums normaux.

Les antigènes que nous employons couramment sont un antigène de foie hérédo-syphilitique et l'antigène préparé suivant les indications de Noguchi ou de Bordet-Ruelens.

Afin d'éviter les fixations aspécifiques de certains sérums, on a conseillé d'ajouter à ces sérums 1/3 de leur volume de sérum négatif. Cette façon de faire n'est pas à conseiller. Nous savons, en effet, que l'addition de sérums négatifs diminue toujours l'intensité de la réaction. Il est des cas où des sérums positifs atténués donnent par cette pratique des résultats négatifs.

DU COMPLEXE HÉMOLYTIQUE NATUREL DES SÉRUMS

Nous avons étudié dans le chapitre (p. 35), consacré au complexe hémolytique, les lois qui régissent le jeu des divers éléments de ce complexe.

Que ce complexe soit formé par les éléments naturels contenus normalement dans le sérum à examiner, ou qu'il soit constitué par des éléments hétérogènes (par exemple : sérum de cobaye + sérum lapin anti-mouton + globules de mouton), les mêmes considérations s'appliquent à l'un aussi bien qu'à l'autre.

Résumons-les :

Le complexe hémolytique n'est pas le même pour tous les sérums et peut varier entre des limites très étendues. La dose de complément et d'hémolysine contenus dans 0,2 de divers sérums peut varier pour l'alexine de 0 à 2 unités, pour la sensibilisatrice de 0 à 100 unités (Ronchèse).

L'index hémolytique varierait de 0 à 29 unités (Rubinstein).

Pour un même sérum les proportions de complément et d'hémolysine antimouton peuvent varier non seulement d'un prélèvement à un autre, mais aussi avec le temps et ceci d'une façon qui échappe à toute règle.

Si le complément diminue toujours par le vieillissement, l'hémolysine, par contre, peut augmenter surtout lorsqu'on laisse le sérum au contact du caillot.

Le chauffage à 56° réduit dans de fortes proportions l'hémolysine antimouton du sérum.

Lorsqu'on fait varier l'un des constituants du complexe hémolytique, il faut faire varier l'autre pour obtenir les mêmes effets (loi de suppléance), d'où la possibilité d'utiliser indifféremment des complexes hémolytiques de même valeur.

Le volume total sous lequel agit le complexe hémolytique n'est pas indifférent. Quand le volume augmente, la valeur du complexe hémolytique doit être augmentée, si on veut obtenir la même intensité d'action.

Pour hémolyser des doses décroissantes de globules.

dans le même temps, la quantité des deux éléments du complexe hémolytique diminue moins rapidement.

Le résultat apparent de l'hémolyse ne change pas lorsque des réactions comparatives sont faites avec un même sérum et des doses différentes de complément, la dose d'hémolysine étant proportionnée au complément initial.

Réciproquement : pour des complexes hémolytiques de même valeur, la fixation d'une même fraction du complément initial se traduit toujours par le même résultat apparent.

POUVOIR ANTICOMPLÉMENTAIRE DES SÉRUMS

Cette question n'est pas à soulever dans la réaction au sérum chauffé, où le complément appartient au sérum même et est partie intégrante de sa composition.

Nous savons par contre son importance dans les réactions au sérum chauffé où l'on emploie comme source de complément des sérums hétérogènes.

Influence du volume du sérum mis en jeu dans la réaction

Etant donné que, dans notre technique au sérum non chauffé, nous employons des doses variables de sérum, il nous paraît utile de voir quelle influence peut avoir dans la réaction de Bordet-Wassermann la dose de sérum mise en jeu.

Nous avons vu ce qu'il fallait en penser dans le cas des réactions de Bordet-Wassermann au sérum chauffé.

Par contre, dans le cas de réactions au sérum non chauffé, la variation du volume de sérum n'a aucune influence sur le résultat de la réaction à la condition de n'employer que le complément du sérum même et non un complément hétérogène comme cela se pratique dans les réactions de Bauer, de Busila, de Chababier, Lebert et Betancès, etc.

En effet, si nous effectuons la réaction par la technique de Ronchèse, dans laquelle nous pouvons constituer par le jeu de l'hémolysine antihomme ajoutée au second temps de la réaction, un complexe hémolytique toujours de même valeur et égal à l'unité, *nous obtenons, avec des doses très différentes de sérum sus-*

pect, toujours le même résultat. La condition indispensable est ici l'établissement d'un complexe hémolytique qui doit toujours avoir la même valeur : une unité de complexe hémolytique.

Il n'en serait plus de même avec une technique autre que celle de Ronchèse où la variation du volume du sérum entraînerait fatalement une variation de la valeur du complexe hémolytique mis en jeu.

En effet, considérons un sérum qui sous le volume de 0 cmc. 3 possède un complexe hémolytique égal à une unité. Sous ce volume toutes les réactions au sérum frais donneront généralement le même résultat.

Supposons que ce sérum soit positif limite, c-a-d donnant le résultat H 2, ce résultat traduit la destruction d'une fraction de complément, égale par exemple au $\frac{3}{5}$ du complément initial.

Si donc au lieu d'employer dans la réaction la dose de 0 cc. 3 nous employons une dose 0 cc. 5 ou 0 cc. 6 il est facile de concevoir que l'excès d'hémolysine d'une part, la quantité de complément résiduel plus considérable d'autre part, (puisque avec 0 cc. 6 le complément est double de 0 cc. 3) vont former un complexe hémolytique suffisant pour hémolyser les globules de mouton engagés dans la réaction. Et nous obtiendrons ainsi *un résultat négatif*.

Par contre, si ce même sérum est employé à la dose de 0 cc. 1, ou 0 cc. 2 par exemple, le complément résiduel va être supérieur à celui qui existait avec 0 cc. 3. De plus l'hémolysine antimouton étant en quantité plus petite que celle contenue dans 0 cc. 3, nous aurons

en fin de réaction une absence complète d'hémolyse soit : une réaction fortement positive.

Il suffirait donc de faire varier dans un sens ou dans l'autre le volume de ce sérum pour obtenir des réactions variant de HO à H8.

En conclusion, nous voyons que la *quantité de sérum suspect n'a aucune influence sur le résultat final de la réaction*, à la condition d'employer une technique *susceptible de maintenir une valeur constante du complexe hémolytique* (et égale à l'unité).

Par contre, les quantités différentes d'un même sérum peuvent donner des résultats différents si, dans la réaction employée, leur variation entraîne la variation de la valeur du complexe hémolytique.

Nous avons vu (p. 41) que la concentration en antigène (mêmes doses d'antigène dans un volume variable) et que la variation du volume total n'ont aucune influence sur le résultat final de la réaction, à condition de régler l'activité du complexe hémolytique en tenant compte de ces différents facteurs.

Enfin nous rappelons que l'action des sérums étrangers n'est pas sans influence sur le résultat d'une réaction et qu'on arrive toujours par l'addition d'un sérum négatif à négativer une réaction.

Techniques au sérum non chauffé

Nombreuses sont les techniques qui sont nées de la réaction de Hecht.

Nous allons passer en revue ici les principales, celles qui sont les plus caractéristiques et dont toutes les autres ne sont que des variantes.

Technique de Hecht. — (Technique originelle).

L'antigène : extrait alcoolique de cœur de cobaye de Landsteiner et Muller, dilué de 2 à 5 % dans l'eau physiologique.

Sérum du malade : employé très frais.

	1	2	3	4
	cc	cc	cc	cc
Eau physiologique	1	—	—	—
Sérum suspect frais	0.1	0.1	0.1	0.2
Suspension de globules de mouton à 2°/o	0.1	—	—	—
Antigène à dose simple	—	1	—	1
Antigène à dose double	—	—	1	—
	Etuve à 37° 1 heure			
Suspension de globules de mouton à 2°/o	—	1	1	1

L'hémolyse doit être toujours complète dans le tube 1. La réaction est négative ou positive suivant que les tubes 2, 3, 4, sont ou ne sont pas hémolysés.

Une modification de cette première technique a été donnée en 1926 par Hecht :

				Témoin	Eventuellement						
	1	2	3	4		5	6	7	8	9	10
Sérum non chauffé .	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.15	0.1	0.1	0.15	0.2
Eau physiologique .	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	—	—	—	—	—	—
Antigène I (cœur de bœuf) . .	—	—	—	—		1	1	1	—	—	—
Antigène II (cœur cholestérolé)	—	—	—	—		—	—	—	1	1	1
Séjour à l'é-tuve. . .	25 minutes					1 heure					
Globules de mouton à 8 % . .	0.1	0.2	0.3	0.5		La dose titrée de sang					

La lecture se fait quand le tube témoin a hémolysé. Etant donnée la grande variabilité du complexe hémolytique, la réaction pourra se faire en présence d'un complexe hémolytique soit trop fort, soit trop

faible, et donner lieu aux erreurs que nous avons signalées dans ces deux cas.

La deuxième technique est moins exposée à ces erreurs, mais n'en est pas à l'abri. La dose 0,1 de sérum mise en jeu, peut être ou bien assez riche en complexe hémolytique pour hémolyser une quantité plus grande que 0,5 de suspension globulaire, ou bien insuffisante pour hémolyser 0,1 de globules. Par conséquent, lorsqu'on ajoutera les doses de globules pour la réaction, *ces doses pourront être trop fortes ou trop faibles*. Nous retombons encore dans les mêmes erreurs de la première technique. D'autre part, le titrage se fait en ajoutant les globules après 25 minutes d'étuve alors que les mêmes globules ne sont ajoutés dans le deuxième temps de la réaction qu'après une heure d'étuve. Ce qui n'est pas sans inconvénient, car un complexe hémolytique peut être très différent après 25 minutes ou après 60 minutes d'étuve.

Technique de Weinberg. — Pour réduire les causes d'erreurs imputables à la réaction de Hecht, Weinberg conseille de déterminer l'index hémolytique du sérum à examiner; cette épreuve consiste à évaluer la quantité d'une émulsion globulaire que peut hémolyser 0 cc. 1 de sérum à examiner : pour cela on prépare une série de tubes dans lesquels on met 0 cc. 1 de sérum non chauffé et des quantités croissantes de suspension globulaire de 0 cc. 1 à 1 cc. On complète par de l'eau physiologique pour que le volume soit de 2 cc. dans tous les tubes. Au bout de une heure d'étuve à 37°,

on note le dernier tube hémolysé. Le numéro de ce tube représente la valeur de l'index hémolytique.

Weinberg considère que les *résultats négatifs* ne doivent être acceptés que si l'index hémolytique est *égal ou inférieur à 3*; les positifs que s'il est *égal ou supérieur à 6*.

Cette restriction apportée par Weinberg est des plus légitimes; mais combien de résultats laisse-t-elle sans solution? Que deviennent avec cette technique tous les sérums ayant un index hémolytique compris entre 3 et 6 et ceux qui, sûrement positifs, ont un index inférieur à 6 (et ils sont légion), et enfin tous ceux qui, sûrement négatifs, ont un index inférieur à 3. La technique de Bauer n'emploie que l'hémolysine naturelle des sérums, mais la réaction n'est pas praticable dans tous les cas, et, d'autre part, peut conduire suivant la richesse du sérum en hémolysine, à des résultats soit trop faibles par excès de complexe hémolytique, soit, le plus souvent, à des résultats non spécifiques par défaut de complexe.

Les techniques de Marg. Stern, de Busila, Chabanier, Lebert et Betancès par exemple ne sont pas à l'abri des résultats erronés par excès de complexe hémolytique.

Par contre, celles de Bauer-Hallion, de saturation de Esbach et Duhot, sont susceptibles de donner des résultats erronés par défaut de complexe hémolytique.

Certains auteurs, dans le but de réduire le pouvoir hémolytique naturel, ont recours au vieillissement du sérum ou au chauffage prolongé à 38° pendant 12 à

24 heures. Nous savons combien ce phénomène est irrégulier et inconstant. De plus ces artifices peuvent provoquer la destruction de certains anticorps.

La technique de Rubinstein est une des plus perfectionnées. Mais cette réaction, de l'avis même de l'auteur, ne permet de faire état que des réactions nettement positives.

La technique de Muttermilch est une bonne technique, mais elle est un peu arbitraire dans le choix des doses des globules mis en jeu. Pourquoi, dans la réaction proprement dite, l'auteur choisit-il la dose égale au $\frac{1}{3}$ de la dose déterminée par le titrage de l'index du sérum? Celle-ci est une dose souvent trop faible pouvant conduire à des résultats négatifs.

D'autre part, la dose de 0,1 de sérum mise en œuvre peut être insuffisante pour hémolyser la première dose 0,3 de globules, ou trop forte et capable d'hémolyser une dose bien supérieure à la plus forte dose de globules 0,9 mise en jeu.

La technique de Renaud a, à notre avis, les mêmes inconvénients que la technique de saturation de Esbach et Duhot.

La technique de Ronchèse (méthode dite rapide, ne nécessitant pas l'emploi de sérum antihumain) est très précise, mais présente l'inconvénient d'exiger, pour chaque sérum, un titrage préalable assez long et délicat.

Dans la technique de Rodillon, le complexe hémolytique est réglé par le mélange en proportions variables de sérum frais et du même sérum inactivé. Le

premier tube de la réaction contient 3 volumes de sérum inactivé pour un volume de sérum non chauffé.

Pour peu que nous ayons à faire à un sérum à anticorps labiles que le chauffage aura détruit, nous nous trouverons, dans ce premier tube, en présence d'un mélange composé de une partie de sérum à examiner et 3 parties de sérum négatif dont les albumines sont en équilibre. Il n'en faut pas davantage pour négativer le résultat final (voyons influence sérum étranger, p. 41) surtout si le sérum à examiner n'est pas très fortement positif.

Ceci nous l'avons vérifié par de nombreux essais faits par la technique de Rodillon avec des sérums donnant des réactions dissociées au Bordet-Wassermann et au Hecht.

D'autres techniques, afin d'éliminer les causes d'erreur provenant de l'hémolysine naturelle, utilisent une hémolysine autre que l'hémolysine antimouton.

Parmi celles-là, la technique de Noguchi, employant l'hémolysine antihumain, ne met pas à l'abri des erreurs par excès ou défaut de complexe hémolytique, car la dose unique de sérum employée peut contenir des doses variables de complément.

Ronchèse dans le but de parer à cet inconvénient, fait un titrage préalable avec des doses variables de sérum. Il utilise dans la réaction finale la dose qui en présence de une unité d'hémolysine antihumain, détermine l'hémolyse des globules dans le temps prévu.

Cette réaction est certainement une des meilleures,

mais elle présente l'inconvénient de nécessiter du sérum antihumain; d'autre part le titrage préalable de chaque sérum en fait une technique un peu longue et délicate.

Technique personnelle au sérum non chauffé

Dans cette technique, nous nous sommes efforcés de parer à la plupart des inconvénients inhérents à toute réaction au sérum non chauffé.

Tout en cherchant à la rendre sensible, nous avons veillé à ce qu'elle soit spécifique.

La technique que nous avons adoptée nous permet :

a) De contrôler et d'interpréter toutes les modalités d'action des divers éléments et de ne rien laisser au hasard (autant que cela est matériellement possible).

b) D'obtenir dans tous les cas des résultats comparables.

c) Une exécution facile et rapide et une lecture nette des résultats.

Pour cela il fallait opérer, dans tous les cas, dans des conditions identiques.

Deux remarques nous ont guidés pour remplir ces conditions :

1° Le volume de sérum introduit dans le premier temps de la réaction n'influe pas sur le résultat final,

à la condition d'éviter la présence d'un sérum étranger (voyez p. 90).

2° Pour un même sérum en présence d'une même dose d'antigène, il se détruit toujours la même proportion de complément initial. Ce qui, en présence d'un complexe hémolytique de même valeur, se traduit par le même degré d'hémolyse.

Le tableau suivant donne le dispositif de la réaction.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Eau physiologique.	1.65	1.6	1.5	1.4	1.3	1.85	1.8	1.7	1.6	1.5
Sérum suspect.	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
Antigène (Noguchi ou foie hérédo	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	—	—	—	—	—
30 minutes à 37°										
Globules de mouton.	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

On peut d'ailleurs augmenter le nombre des tubes. Nous considérons que, dans la pratique courante, c'est parmi les doses désignées sur le tableau précédent que l'on rencontre dans l'immense majorité des cas le complexe hémolytique exigé par la réaction (une unité).

Nous nous empressons de dire que cette appréciation est fondée sur une longue expérience, puisque

nous avons effectué avec cette technique, plus de cinquante mille réactions.

Les cinq derniers tubes ne contiennent que de l'eau physiologique, *des doses croissantes de sérum à examiner* et une *dose constante de suspension globulaire*. Les cinq premiers tubes ne diffèrent que par la présence de 0,2 d'antigène titré. Ces cinq tubes témoins vont nous renseigner sur la valeur du complexe hémolytique du sérum à examiner et, d'autre part, ils vont nous permettre de choisir, parmi les quantités de sérum, celle qui possède la valeur du complexe hémolytique égal à l'unité. Celle-ci correspondra au tube dans lequel une hémolyse franche se sera produite au bout d'une demi-heure. Voici un exemple :

Si on examine les tubes de dix minutes en dix minutes, voici ce qu'on constate généralement : le tube 10 aura complètement ou presque complètement hémolysé, les tubes 9 et 8 présenteront un début d'hémolyse, plus marquée en 9 qu'en 8.

Au bout de dix autres minutes, le tube 9 sera complètement hémolysé et le tube 8 à moitié; dans le 7 et 6 il y aura un début d'hémolyse plus marquée en 7 qu'en 6.

Au bout des dix dernières minutes, les tubes 10, 9 et 8 seront franchement hémolysés, le tube 7 le sera aux trois quarts le tube 6 ne le sera pas du tout ou très légèrement.

Le tube 8 sera donc le tube contenant la quantité de sérum possédant la dose de complexe hémolytique égale à l'unité.

Il suffit donc de se reporter au tube à réaction correspondant, c'est-à-dire au tube 3 et de lire le degré de son hémolyse.

La comparaison des deux tubes permettra la lecture du résultat de la réaction.

Nous venons de donner là l'exemple le plus courant rencontré dans la pratique de cette réaction. Cependant, il n'en est pas toujours ainsi, et, suivant la richesse en complexe hémolytique du sérum examiné, nous verrons qu'il faudra se reporter vers la droite (vers les tubes 9 et 10) pour les sérums moins hémolytiques et vers la gauche (7 et 6) pour les sérums très hémolytiques.

C'est dans les tubes 7, 8 ou 9 que se produit couramment l'hémolyse.

Cas où l'hémolyse est insuffisante ou nulle dans le dernier tube. — Il existe toutefois des sérums qui ne sont pas suffisamment riches en complexe hémolytique, pour hémolyser même à la dose de 0,4 la quantité de suspension globulaire mise en jeu dans la réaction. Deux solutions peuvent être envisagées :

1° Le tube 10 présente un certain degré d'hémolyse; dans ce cas on peut alors recommencer la réaction en prenant comme dose initiale de sérum 0,4 et faire une série de 2, 3, ou 4 tubes, suivant qu'on a jugé qu'il s'en fallait de peu ou de beaucoup pour arriver à l'hémolyse totale des globules.

2° L'hémolyse ne se produit dans aucun tube. Trois éventualités sont alors à envisager :

a) Le sérum ne possède pas d'hémolysine.

On peut alors essayer de parer à cet inconvénient en ajoutant une dose d'hémolysine titrée dans tous les tubes. On les remet à l'étuve. On fait une nouvelle lecture au bout de vingt minutes ou une demi-heure.

b) Le sérum ne possède pas de complément.

Dans ce cas, même après l'addition précédente d'hémolysine, l'hémolyse n'a pas lieu.

Il faut alors *recommencer la réaction*. Dans le *premier temps* de la réaction on ajoutera dans tous les tubes une dose de complément égale à l'unité (cobaye de préférence).

Après le premier passage à l'étuve, on ajoutera les globules. L'hémolyse se produit franche dans un ou plusieurs tubes témoins. On n'aura plus qu'à faire la lecture.

Remarque importante et qui découle des recherches que nous avons effectuées il y a quelques années : *Il arrive presque toujours* (dans le cas où nous ajoutons du complément à ces sérums) *que l'hémolyse ne se produise pas toujours d'une façon progressive du tube 5 vers le tube 10*. Souvent elle a lieu électivement dans un tube situé entre les tubes 5 et 10, et de ce tube elle *va en décroissant vers la gauche et vers la droite*.

Ceci est dû : pour les tubes qui contiennent des doses inférieures de sérum, et qui sont situés à la gauche du tube hémolysé, à l'insuffisance du pouvoir hémolytique en jeu; pour ceux placés à sa droite, à

leur pouvoir anticomplémentaire qui, devenant de plus en plus considérable, avec les doses croissantes, diminue l'action du complexe hémolytique.

c) Le sérum ne contient ni complément ni hémolysine.

On s'en rendra compte en constatant que le sérum n'aura pas provoqué d'hémolyse dans aucun des tubes témoins même après l'addition de complément dans le premier temps de la réaction.

On pourra alors ajouter dans tous les tubes une dose d'hémolysine titrée et remettre à l'étuve. On fait la lecture au bout d'une demi-heure. On choisira le tube de la série des tubes témoins qui aura hémolysé au bout de ce temps.

Dans ce cas, l'hémolyse dans les tubes témoins ira progressivement en *décroissant* depuis le tube 5 jusqu'au tube 10, c'est-à-dire depuis le tube qui contient le moins de sérum vers celui qui en contient le plus, *contrairement* à ce qui se passe lorsque le sérum possède hémolysine et complément naturels.

Le phénomène est uniquement imputable au pouvoir anticomplémentaire des sérums (voyez p. 47). Ce pouvoir anticomplémentaire augmentant avec la dose de sérum, le complément résiduel actif diminuera en sens inverse. Il arrive même quelquefois que le sérum étant particulièrement anticomplémentaire, l'hémolyse soit incomplète même dans le premier tube témoin.

Quoi qu'il en soit, pour ces raisons, nous préférons,

dans le cas de sérums dépourvus des deux éléments du complexe hémolytique, pratiquer de préférence une réaction de Wassermann (de préférence avec notre technique qui tient compte du pouvoir anticomplémentaire des sérums.)

Nous nous empressons de dire que ces cas particuliers, dont nous venons de faire l'étude, ne représentent qu'une infime minorité des réactions que nous effectuons quotidiennement. L'éventualité la plus fréquente est l'absence de l'hémolysine naturelle.

C'est la plus facile à corriger, puisqu'elle n'entraîne pas la nécessité de recommencer la réaction, mais simplement l'addition d'une unité hémolytique dans tous les tubes.

Revenons à l'étude de la technique elle-même. Quelques explications sont nécessaires pour éclairer sinon justifier ses caractéristiques.

Antigène. — Dose unique dans tous les tubes à réaction; nous en connaissons la raison (Voyez p. 66).

Certains sérums auraient la propriété de fixer le complément en présence de certains antigènes, due à une légère hyperactivité des globulines (?) Cette propriété diminuerait par le vieillissement. Aussi certains auteurs conseillent de n'examiner ces sérums par la technique de Hecht que trois ou quatre jours après leur prélèvement.

Nous déconseillons formellement cette pratique. Ce vieillissement transforme les qualités du sérum d'une façon tout à fait irrégulière, tantôt il réduit les anti-

corps spécifiques, quelquefois jusqu'à destruction complète; d'autres fois, surtout lorsque le sérum reste au contact du caillot, on voit la valeur du complexe hémolytique tantôt augmenter, tantôt diminuer.

On a conseillé encore, dans le même but, d'ajouter au sérum à examiner un tiers de son volume d'un sérum négatif. Mais ce procédé a de même l'inconvénient de diminuer l'intensité de la réaction (voyez p. 41) au point de la rendre négative, dans le cas de sérums positifs ou faiblement positifs.

Nous croyons en définitive qu'on a beaucoup exagéré cette « fixation protéotropique » de certains sérums, et nous nous demandons même si réellement elle existe. Nulle preuve scientifique rigoureuse ne l'a encore établi.

Nous sommes au contraire de plus en plus convaincus que toute cette question se ramène en définitive à une question de technique et surtout d'antigènes.

Par l'emploi d'antigènes, bien choisis, on se mettra complètement à l'abri de ces réactions non spécifiques. D'ailleurs, dans les cas suspects, il suffit de refaire la réaction à quelques jours d'intervalle. Si elle donne à nouveau le même résultat, avec la même intensité, on peut être assuré que le premier résultat était spécifique : les fixations non spécifiques n'ayant jamais la même intensité d'un prélèvement à l'autre.

Nous savons que certains antigènes ont un léger pouvoir anticomplémentaire qu'on peut mettre en évidence en présence de sérum de cobaye par la technique indiquée page 70.

Ce léger défaut ne les empêche pas d'être utilisables et de donner d'excellents résultats, à la condition d'en tenir compte (voyez p. 110).

Ce pouvoir antilexique, tout en existant vis-à-vis de l'alexine de cobaye, peut manquer vis-à-vis de celle apportée par le sérum à examiner.

On le vérifie en mettant cet antigène en présence d'un sérum humain négatif et en vérifiant que l'hémolyse se fait également dans des tubes témoins ne contenant que du sérum.

Quoi qu'il en soit, il est cependant prudent, dans le cas d'un antigène ayant présenté un pouvoir anticomplémentaire au cours des réactions au sérum chauffé, de le considérer comme s'il l'était aussi pour le sérum frais et agir en conséquence.

Sérum à examiner. Doses croissantes. — Pour opérer dans de bonnes conditions, il faut opérer dans des conditions telles que l'activité réelle de chacun des éléments soit toujours pareille à elle-même. Ce qui permet d'obtenir des réactions comparables entre elles.

Or, en ce qui concerne le sérum à examiner, nous savons que la valeur du complexe hémolytique est très variable d'un sérum à l'autre (voyez p. 43).

Pour obtenir la dose égale à l'unité (ce qui nous met dans les meilleures conditions pour l'action de ce complément, il était normal de faire varier les quantités de sérum afin de choisir celle qui possédait ce complexe.

Le tube remplissant cette condition sera le tube choisi pour la réaction.

La quantité de sérum contenue dans ce tube importe peu, car nous savons que le volume de sérum introduit dans la réaction n'influe nullement sur le résultat final lorsque le complément était apporté par ce sérum (voyez p. 41).

Globules de mouton, eau physiologique et matériel.
— Comme dans la technique au sérum chauffé.

Lecture des résultats. — Se fait dans le tube à réaction correspondant au témoin dont le complexe hémolytique est égal à l'unité.

Voici quelques aspects de la réaction :

Réactions négatives. — Les tubes témoins et ceux à réaction présentent le même aspect. Voici un exemple :

HO H2 H6 H8 H8 | HO H2 H6 H8 H8

Réactions fortement positives. — Aucun des tubes à réaction n'a hémolysé; un, plusieurs ou tous les tubes témoins ont hémolysé.

Exemples :

a) HO HO HO HO HO | HO H2 H6 H8 H8
b) HO HO HO HO HO | H1-2 H5 H8 H8 H8
c) HO HO HO HO HO | H6-7 H8 H8 H8 H8

Réactions positives atténuées — ou légèrement douteuses — ou positives limite. — Dans ce cas le nombre de tubes témoins hémolysés est plus considérable que celui des tubes à réaction. La comparaison du premier tube témoin franchement hémolysé et du tube à réaction correspondant donne le résultat.

Exemples :

- a) HO HO HO H1-2 H6 | H3-4 H6-7 H8 H8 H8
[positif limité]
- b) HO HO HO H1-2 H4-5 | HO H2 H5 H8 H8
[positif atténué]
- c) HO H1 H4 H6-7 H8 | H4 H6-7 H8 H8 H8
[douteux]
- etc., etc.

Quelques remarques sont nécessaires.

1° Il arrive parfois que l'antigène employé, quoique excellent, possède un léger pouvoir anticomplémentaire. Dans ce cas, il vaut mieux faire la lecture non plus dans le tube à réaction correspondant au premier tube hémolysé, mais dans le suivant.

Par exemple : le premier tube témoin hémolysé est le tube 8. La lecture au lieu de se faire dans le tube 3 se fera dans le tube 4. Ce léger décalage nous évitera des résultats trop forts ou aspécifiques.

2° Le sérum examiné est trop riche en complexe hémolytique. Deux cas sont à considérer :

- a) L'hémolyse est complète dans tous les tubes témoins au bout de vingt minutes, au lieu de ne se faire

(au moins dans le premier) qu'au bout d'une demi-heure (temps prévu pour notre réaction et correspondant à la valeur de complexe hémolytique égale à 1.) Dans ce cas faire la lecture à ce moment.

b) L'hémolyse des tubes témoins est complète au bout de cinq ou dix minutes. Il est alors indiqué de recommencer la réaction car nous risquons des résultats trop faibles. Il suffira de diluer le sérum à examiner au 1/10 avec de l'eau physiologique et de l'employer aux doses de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5.

Ces cas sont d'ailleurs exceptionnels.

Il est évident que dans les cas où malgré l'hémolyse rapide des tubes témoins, les tubes à réaction ne présentent pas trace d'hémolyse, on est en présence de réactions fortement positives. Il n'est pas nécessaire de recommencer avec d'autres dilutions.

Réaction de Jacobsthal

La réaction de Jacobsthal ne diffère de celle de Wassermann que par le premier temps de la réaction (fixation du complément) qui, au lieu de se faire à l'étuve à 37°, se fait dans la glace. Jacobsthal et d'autres auteurs (Guggelheimer, Altmann, Zimmern, Rubinstein) auraient obtenu avec cette technique, dans la syphilis, des résultats supérieurs à ceux donnés par la réaction de Wassermann, surtout dans les syphilis anciennes et traitées. Les hypothèses pour expliquer cette plus grande sensibilité ont été très nombreuses : les uns ont pensé que le pouvoir anticomplémentaire augmentait par l'action du froid; Liebermann l'explique par l'alcalinité des sérums; Rubinstein et Radossavliewitch ont émis l'hypothèse d'une intervention des globulines dont la précipitation se produirait mieux à froid qu'à chaud. A notre tour nous avons essayé de rechercher si vraiment la réaction de Jacobsthal présentait une plus grande sensibilité et quelles pouvaient en être les causes.

Voici quelles ont été les recherches que nous avons effectuées dans ce but.

Avant tout nous avons pris les précautions néces-

saires pour opérer autant que cela était possible dans les environs de 0°

Dans ce but tous les éléments de la réaction, ainsi que l'eau physiologique et la verrerie, n'étaient employés qu'ils n'aient séjourné trois ou quatre heures à la glacière. Nous avons pu même faire les *manipulations à l'intérieur de la glacière*, c'est-à-dire aux environs de 2 ou 3°.

Dans ces conditions, nous avons effectué les dix épreuves suivantes.

1° Complément de cobaye à 40 p. 60	0,1	0,1	0,10	0,1	0,1
2° Hémolysine antimouton titrée	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
3° Antigène	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
4° Sérum	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
5° Globules rouges	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
6° Hémolysine titrée	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Complément	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
7° Sérum (négatif ou positif)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Complément	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
8° Complément	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Antigène	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

9° Sérum	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Antigène	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
10° Sérum	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Complément	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Antigène	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Dans toutes ces séries de tubes on a ajouté 1,5; 1,4; 1,3; 1,2; 1,1; d'eau physiologique.

Après un séjour de une heure à la glacière, nous avons complété les systèmes hémolytiques afin de provoquer l'hémolyse, en ajoutant dans chaque série de tubes les éléments qui leur manquaient. Parallèlement nous avons effectué ces mêmes réactions mais à 37°. Voici ce que nous avons constaté : quelle que fût la série de tubes, il y avait toujours un retard marqué dans l'hémolyse des tubes qui avaient séjourné à la glacière sur celle des tubes ayant séjourné à l'étuve à 37°.

D'autre part, nous avons effectué sur plus de 5.000 sérums la réaction de Bordet-Wassermann parallèlement à celle de Jacobsthal en employant notre technique de doses croissantes d'hémolysine, et nous n'avons jamais pu constater dans les résultats aucune discordance. La seule différence était constamment la suivante : la lecture des réactions de Jacobsthal se faisait dans les tubes contenant des doses plus considérables d'hémolysine que celles qui permettaient la lecture des réactions de Wassermann.

Nous pensons donc être autorisés à conclure que la prétendue supériorité de la réaction de Jacobsthal

n'est due en réalité qu'à une diminution de la valeur du complexe hémolytique par le passage à la glacière. Cette diminution se traduit par un ralentissement de l'hémolyse, ralentissement qui permet de saisir certaines nuances dans le résultat (surtout dans les syphilis anciennes, où la réaction de Wassermann est faiblement positive), qu'on ne peut observer par les techniques à chaud, surtout par les techniques qui emploient un complexe *hémolytique trop fort*. En définitive, la réaction de Jacobsthal ne nous paraît présenter aucune supériorité sur les techniques de Bordet-Wassermann qui emploient des complexes hémolytiques convenablement dosés.

Résultats obtenus par nos techniques

Avec notre technique au sérum chauffé, nous avons effectué près de *cinquante mille* séroréactions et autant avec notre technique au sérum non chauffé.

Avec ces deux techniques, nous avons effectué d'autre part des réactions comparatives avec les principales techniques de fixation du complément les plus connues et avec quelques-unes des réactions de flocculation.

Nous n'entrerons pas ici dans le détail de chaque cas. Cela sortirait du cadre de ce travail.

Nous nous contenterons de relater en bloc les résultats que nous avons trouvés, en donnant quelques exemples caractéristiques.

Réaction au sérum chauffé. — D'une façon constante notre technique s'est montrée plus sensible que la réaction de Wassermann et quelques-unes de ses variantes, sans pour cela donner à aucun moment des résultats non spécifiques.

Ainsi, nous avons effectué 4,500 réactions comparatives avec le Bordet-Wassermann type, 3,700 avec la Calmette et Massol et Mathis-Labougle, 2,500 avec la

réaction de Ronchèse au sérum chauffé, 740 avec la réaction de « désensibilisation », et près de 5.000 réactions avec la technique de Jacobsthal — pour cette dernière nous renvoyons au chapitre qui lui est consacré (voyez p. 112).

a) Avec la réaction de désensibilisation la concordance est presque parfaite. Elle atteint 99,75 % des cas examinés.

Or, de toutes les techniques au sérum chauffé elle est incontestablement la meilleure, et celle qui s'effectue dans les conditions presque idéales. Cette technique a donné d'ailleurs, entre les mains de nombreux expérimentateurs (Rossi, Rubinstein, etc.), des résultats toujours supérieurs à ceux des méthodes couramment employées.

Jacobaeus, par cette technique, obtient jusqu'à 22 % de résultats supérieurs à ceux de la réaction de Bordet-Wassermann.

Nous avons vu (p. 61) que les causes de la supériorité de cette technique n'étaient dues qu'à la suppression de l'action perturbatrice du P. H. N. et à la possibilité de régler le complexe hémolytique de manière à tenir compte du P. A. C. du sérum.

Or, notre réaction se ramène exactement à la précédente : en effet, dans cette réaction nous tenons compte du P. A. C. et le P. H. N. n'est plus un élément perturbateur puisqu'il entre comme partie intégrante du complexe hémolytique mis en jeu.

Il n'est dès lors pas étonnant de constater la concordance presque parfaite des résultats des deux méthodes.

La nôtre présente cependant le grand avantage de dispenser des opérations spéciales de désensibilisation qui allongent considérablement le temps d'examen, surtout lorsqu'on est obligé d'examiner 60 ou 80 sérums à la fois. Pour elle aucune manipulation supplémentaire; les conditions optima s'obtiennent automatiquement pour chaque sérum.

Avec la technique de Ronchèse, les discordances ne sont pas considérables. Nous avons cependant trouvé un pourcentage de 4 % (soit 100 pour les 2.500 examens effectués) où la réaction était *soit légèrement* plus positive que la nôtre (35 cas), *soit impossible* (65 cas).

Nous n'avons pu rechercher les raisons de ces discordances que sur 79 cas (nous manquions de sérum pour les 21 autres). Nous avons pu alors découvrir un P. A. C. marqué qui, joint à un léger P. A. C. de l'antigène, provoquait des réactions plus fortement positives ou impossibles (pour ces dernières le tube témoin n'hémolysait pas ou hémolysait imparfaitement).

Pour la réaction de Wassermann classique et pour la Calmette et Massol, les discordances avec notre technique sont bien plus considérables. Nous avons en effet obtenu dans certaines séries jusqu'à 22 % de plus de résultats positifs que par ces deux techniques.

Ce pourcentage des sérums examinés est de 13 %.

Nos résultats ont été constamment confirmés par la clinique.

Dans ceux des cas où il nous a été possible de rechercher les causes de cette discordance, nous avons pu établir que l'excès du complexe hémolytique mis en jeu — excès d'autant plus grand que le P. H. N. des sérums était plus considérable — en était seul la cause.

Réactions au sérum non chauffé. — Nous avons comparé notre technique à celles de Hecht classique (2.000 sérums), Levaditi-Latapie (2.500 sérums), de Rubinstein (1.500 sérums), de Muttermilch (1.000 sérums) et de Ronchèse (1.500 sérums).

Les résultats globaux sont les suivants :

Mêmes résultats très approximativement semblables avec la technique de Ronchèse. L'avantage de cette dernière a été cependant de donner des réactions dont le résultat était toujours lisible, alors que pour la nôtre il nous est arrivé d'être obligés de la recommencer pour insuffisance de complément normal du sérum (voyez p. 105). Mais ceci ne s'est produit qu'exceptionnellement : 2 fois sur 1.500.

Ces lectures impossibles deviennent d'ailleurs infiniment rares si on prend la précaution d'effectuer les réactions peu de temps après le prélèvement du sang. Nous savons en effet que, dans ces conditions, les sérums possèdent tous (ou presque) un pouvoir complémentaire suffisant, et qui de plus est approximativement le même pour tous les sérums (Rubinstein).

Par contre si la technique de Ronchèse présente

l'avantage de permettre une lecture certaine des résultats, elle présente le désavantage de nécessiter l'emploi de sérum antihumain d'une part et d'obliger à des titrages préalables pour chaque sérum ce qui n'est pas sans allonger considérablement les opérations.

Avec les techniques de Hecht (Levaditi-Latapie) la discordance est très considérable; elle se produit par excès et par défaut.

Si nous considérons les résultats obtenus par cette réaction *sans tenir compte de la détermination de l'index hémolytique* de Weimberg, les résultats sont des plus inattendus. La discordance est alors de plus de 45 %.

Ces 45 % se divisent en 25 % de résultats négatifs par le Hecht alors que par notre technique ils étaient positifs ou partiellement positifs, et 15 % dont les résultats étaient inverses.

Nous avons pu constater, là encore, que les résultats discordants négatifs par le Hecht étaient dûs à des sérums positifs limite possédant un excès marqué de complexe hémolytique : leur index hémolytique était très élevé et pour certains égal à 22.

Par contre, les résultats positifs donnés par cette technique, et négatifs par la nôtre, avaient un complexe hémolytique faible et leur index hémolytique était petit.

Avec l'épreuve de Weimberg les résultats sont moins fantaisistes et le pourcentage des discordances est plus réduit.

Mais l'index de Weimberg laisse persister cependant

la possibilité de réactions faussement négatives. En effet, les réactions négatives données par la réaction de Hecht ou de Levaditi-Latapie ne sont tenues pour valables que si leur complexe hémolytique est égal ou inférieur à 3. Or, parmi les sérums à index hémolytique égal à 3 il existe des sérums positifs limite ou partiellement positifs. Le complexe hémolytique égal à 3 est encore trop fort et est suffisant pour déterminer l'hémolyse malgré la fixation d'une bonne partie du complément (voyez loi de suppléance).

D'autre part, l'épreuve de l'index hémolytique donne un déchet considérable de résultats dont il ne faut pas tenir compte. Pour les sérums que nous avons examinés ce déchet était de 25 % !

L'étude comparative avec la réaction de Levaditi-Latapie nous conduit approximativement aux mêmes résultats.

Avec les techniques plus perfectionnées de Rubinstein et de Muttermilch, les discordances sont beaucoup moins considérables. De 3 à 8 % suivant les séries. Dans ces pourcentages la réaction a été plus souvent positive par notre technique (surtout pour celle de Muttermilch).

Avec d'autres techniques des essais comparatifs nous ont montré qu'elles menaient trop souvent à des réactions non spécifiques (Ersbach et Duhot, Renaux, Bauer-Hallion).

Comparaisons des résultats obtenus par nos deux techniques.

Dans le chancre, la technique au sérum chauffé a été constamment en avance sur celle au sérum non chauffé, et l'a précédée de 1 à 5 jours (pour 1 cas 8 jours).

Dans la syphilis secondaire, la concordance est parfaite entre les deux réactions. Cependant la réaction au sérum non chauffé présente une plus forte intensité mise en évidence par le titrage des unités.

Dans les syphilis tertiaires et latentes, la technique au sérum frais s'est montrée constamment supérieure.

Le pourcentage global en faveur de la technique au sérum frais est de 9 à 10 %.

Mais si nous ne considérons que les résultats positifs, ce pourcentage atteint 27 à 30 %.

Dans certaines séries où les sérums examinés étaient choisis parmi les malades en traitement ou chez des syphilitiques anciens, ce pourcentage atteint des chiffres tels que 60 et 70 %. Nous ne citons ces derniers pourcentages que pour montrer combien peut être précieuse cette technique pour suivre l'évolution de la maladie sous l'action des traitements.

Tous ces essais ont été pratiqués sur des sérums provenant des différents services de Saint-Lazare, du dispensaire Toussaint-Barthélémy, de notre clientèle privée, etc., par conséquent appartenant à des malades connus pour lesquels nous pouvions avoir tous les renseignements cliniques nécessaires.

Valeur comparative des réactions d'hémolyse et de floculation

Malgré leurs inconvénients, les réactions de floculation ont donné, entre les mains de certains, des résultats supérieurs à ceux obtenus par les réactions habituelles d'hémolyse. De là à conclure que dans certains cas, sinon dans tous, les réactions de floculation étaient supérieures aux réactions d'hémolyse, il n'y avait qu'un pas.

C'est contre cette opinion, qui malheureusement se généralise, que nous nous élevons ici.

Que ce soient les méthodes de Meinicke ou de Sachs et Georgi, de Kahn, de Dujarric de la Rivière, etc., ou celle de Vernes, aucune de ces méthodes n'est capable de rivaliser avec une réaction de fixation du complément bien faite.

Tout en ne nous dissimulant pas l'importance et l'intérêt des réactions de floculation, il nous semble paradoxal qu'ayant à notre disposition une réaction aussi sensible et fine que la réaction de B.-W., laquelle au surplus a fait ses preuves, on n'ait pas essayé de la perfectionner afin d'en obtenir, dans tous les cas, le maximum de rendement.

Si, en effet, il arrive que les techniques de floculation se montrent parfois supérieures aux techniques classiques d'hémolyse, c'est parce qu'aucune des techniques généralement employées n'est conditionnée de façon à éviter les erreurs inhérentes presque toujours au système hémolytique employé.

Nous sommes de plus en plus convaincus que le discredit dans lequel est tombée la réaction de Bordet-Wassermann — aux yeux de certains auteurs — ne relève que des erreurs provoquées par l'utilisation de quantités arbitrairement élevées de complexe hémolytique.

Nous avons montré combien le jeu de ce complexe hémolytique était important dans la réaction classique, et dans quelle mesure considérable les réactions négatives ou faibles dans le cas de syphilis avérées et en évolution, étaient imputables à un excès de ce complexe hémolytique.

En effet, nous avons constaté, par exemple, qu'il était assez fréquent d'obtenir des résultats négatifs avec la technique de Bordet-Wassermann type ou avec la technique de Calmette et Massol, alors que les techniques de floculation étaient positives ou partiellement positives. Nous attachant à l'étude de ces sérums, nous avons constaté que, toujours, nous avions affaire à des complexes hémolytiques trop forts, soit du fait du pouvoir hémolytique naturel des sérums, soit surtout à cause du complexe hémolytique mis en jeu dans ces réactions.

Ce qu'il faut bien comprendre, c'est que si les réac-

tions de floculation se montrent parfois supérieures aux réactions classiques, telles qu'on les pratique actuellement, cela est strictement lié aux deux causes suivantes :

a) Les réactions de floculation sont faites dans des conditions tout à fait comparables, pour ne pas dire identiques (mêmes quantités de sérum et d'antigène dans les mêmes conditions opératoires); en outre, ces réactions sont mécaniquement réglées, et aucun élément comparable au complexe hémolytique des réactions de fixation du complément ne vient fausser leurs résultats.

b) Les réactions d'hémolyse, au contraire, malgré leur plus grande sensibilité par leurs complexes hémolytiques mal réglés, sont effectuées dans des conditions tout à fait dissemblables.

Dans ces réactions, la valeur du complexe hémolytique définitif varie au hasard des qualités du sérum (pouvoir hémolytique naturel et pouvoir anticomplémentaire du sérum).

La grande majorité pêche soit par excès (B.-W. classique, Calmette et Massol), soit par défaut (Bauer), soit par excès ou par défaut suivant les propriétés des sérums (Rubinstein).

Il est ainsi facile de se rendre compte que les résultats des réactions effectuées sur un même sérum puissent être contradictoires entre les mains d'opérateurs différents, selon la technique employée par les uns et par les autres, tous d'ailleurs effectuant correctement ces différentes techniques.

Bien plus, pour un même sérum, à quelques jours d'intervalle, la même technique peut donner des résultats contradictoires.

En effet, la valeur du complexe hémolytique naturel de chaque sérum peut varier d'un prélèvement à l'autre. Le sang d'un même sujet prélevé à deux ou trois jours d'intervalle peut présenter 10 unités hémolytiques au premier prélèvement et 0 unité à l'autre. Dans ces conditions il est évident que la dose de complexe hémolytique entrant en jeu sera très inégale lors des deux réactions et si le sérum appartient à la dernière catégorie que nous venons d'étudier, il pourra donner un résultat négatif au premier examen et positif au second.

Ces considérations que nous venons d'exposer ne sont pas du domaine hypothétique mais bien réel, puisque nous avons pu reproduire ces erreurs de la façon suivante :

Soit une série de tubes contenant chacun 1 cc. (par exemple) de sérum A fortement positif; à chacun de ces tubes nous allons ajouter une quantité a de divers sérums négatifs : a d'un sérum négatif B dans le 1^{er} tube; a d'un autre sérum négatif C dans le 2^e tube; a d'un troisième sérum négatif D dans le 3^e tube et ainsi de suite dans tous les tubes (a représentant la quantité d'un sérum négatif quelconque qu'il convient d'ajouter à 1cc. du sérum positif fort A pour rendre le mélange positif limite HO-1.

Les sérums B, C, D, etc., ont un pouvoir hémolytique croissant.

Si, avec les différents mélanges des tubes, nous effectuons autant de réactions de B.-W. classique ou de Calmette et Massol, nous obtiendrons des résultats différents variant de HO-1 à H8. Ces différences ont donc été provoquées uniquement par la variation du complexe hémolytique.

Par contre, l'étude des réactions de floculation montre de façon évidente que ces réactions sont faites toujours dans des conditions à peu près identiques au point de vue quantité des sérums, des réactifs, de la température, etc. De plus dans ces réactions l'artifice indicateur des résultats (baume de tolu, benjoin, etc.), ne sont pas susceptibles de fausser les résultats, mais bien au contraire de les intensifier.

Par conséquent, ces réactions méthodiquement faites donnent dans tous les cas des résultats comparables.

D'après ce que nous venons de voir au sujet des réactions d'hémolyse et de floculation, il est donc facile de concevoir qu'on ait pu, pour certains sérums (surtout positifs limite ou atténués), obtenir des résultats positifs par la floculation et négatifs par l'hémolyse.

Ce sont ces discordances qui ont fait conclure certains sérologistes à la supériorité des réactions de floculation sur les réactions du B.-W. au sérum chauffé.

Mais nous nous rendons compte après ce qui précède que cette supériorité n'est qu'apparente et due au mauvais réglage du complexe hémolytique. Car les

réactions d'hémolyse sont incontestablement plus sensibles et plus spécifiques que les réactions de floculation. Il ne faut pas, en effet, oublier, comme le dit Douris, qu'entre la floculation et la fixation de l'alexine, il y a une différence considérable de sensibilité, « que l'alexine joue un rôle sélectif, adsorbe certains précipités seulement, ou les adsorbe avec une intensité différente, si bien que le résultat hémolytique final est bien plus significatif que ce qui s'est passé dans la floculation (première phase de la réaction). De plus, il est bien connu que le phénomène de la fixation de l'alexine est beaucoup plus sensible, la fixation de l'alexine peut s'effectuer alors que la floculation est imperceptible et ne peut être décelée même par les appareils d'optique perfectionnés. »

Avec notre technique, qui pare aux inconvénients inhérents au mauvais réglage du complexe hémolytique, et qui, de plus, est conçue de façon que tous ses résultats soient toujours comparables entre eux nous avons effectué deux mille réactions comparativement avec le Meinicke, dix-sept cents avec le Vernes et six cents avec le Kahn; quelques centaines seulement avec le Sachs et Georgi, le Dujarric de la Rivière, etc.

Nous ne nous occuperons ici que du Meinicke, du Vernes et du Kahn, jugeant que nous n'avons pas encore un nombre suffisant d'examen par les autres réactions pour tirer des conclusions. Avec ces trois réactions, *nous n'avons, dans aucun cas, obtenu des résultats supérieurs aux résultats obtenus par notre technique.*

Bien au contraire, le pourcentage de discordances en faveur de notre technique est de 12 % pour le Meinicke, c'est-à-dire que sur 100 examens, 88 concordent avec notre technique et les 12 cas restants étaient négatifs alors que notre technique donnait des résultats positifs ou positifs légèrement atténués (tous d'ailleurs confirmés par la clinique).

Quant à la technique de Vernes, elle nous a paru encore moins sensible que le Meinicke puisque la discordance en notre faveur est de 14 %.

Pour le Kahn les discordances en notre faveur sont de 6 %.

Les discordances signalées plus haut se rencontrent à toutes les périodes de la syphilis avec cependant un maximum pour les cas de syphilis secondaire en traitement et syphilis ancienne traitée.

D'autre part, de l'examen des sérums par ces différentes techniques, nous avons pu tirer la conclusion suivante; c'est qu'au cours de la syphilis les réactions de Meinicke et de Vernes apparaissent plus tardivement que les réactions d'hémolyse, et disparaissent plus rapidement sous l'action des traitements.

Elles sont donc, à elles seules, absolument insuffisantes à contrôler l'action d'un traitement.

Nous restons convaincus, jusqu'à nouvel ordre, qu'une réaction d'hémolyse *est toujours plus sensible que les réactions de floculation*, mais que cette plus grande sensibilité est presque toujours — dans les techniques couramment employées — masquée par un excès du complexe hémolytique.

La réaction de Bordet-Wassermann en dehors de la syphilis

Il y a, cependant, quelques restrictions à faire au sujet de la séroréaction de la syphilis. Nous savons, en effet, qu'on lui a reproché de ne pas être spécifique, d'être positive dans d'autres affections que la syphilis, notamment dans les trypanosomiasés, le paludisme, les infections aiguës, dans les sérums cholémiques et lactescents, dans la lèpre, le pian ou framboesia.

A ce sujet, les travaux qui ont été publiés sont des plus contradictoires.

Pour ce qui est de notre expérience personnelle, nous pouvons affirmer que dans les affections aiguës, le Bordet-Wassermann peut, quelquefois, mais très rarement, devenir faiblement positif pendant les périodes fébriles, mais il redevient négatif dans les périodes apyrétiques et à partir de la convalescence.

En ce qui concerne les sérums cholémiques et lactescents, nous n'avons jamais trouvé des résultats positifs en dehors de la syphilis.

Enfin pour la lèpre, le Bordet-Wassermann est quelquefois positif ou partiellement positif, et dans le pian nous l'avons toujours trouvé positif.

Ces quelques restrictions ne présentent, d'ailleurs,

qu'un pourcentage minime sur l'ensemble des réactions effectuées; si, d'autre part, on s'astreint à ne faire de prélèvement de sang qu'en dehors de toute manifestation pyrétique aiguë et si, enfin, nous considérons que les maladies où le Bordet-Wassermann est, normalement, positif sont rarissimes dans nos régions, nous pouvons conclure que les causes d'erreur deviennent pratiquement nulles.

Conclusions

Tous ceux qui, familiarisés avec la réaction de Bordet-Wassermann, ont effectué des réactions comparatives avec plusieurs techniques, connaissent l'irrégularité et les contradictions dans les résultats obtenus.

Nous avons recherché par l'étude de ces techniques, quels étaient les facteurs responsables de ces irrégularités.

Nous avons pu établir que — à qualités égales de tous les éléments de la réaction — les principaux facteurs de ces discordances étaient :

- a) Le complexe hémolytique mis en jeu.
- b) Le pouvoir hémolytique naturel des sérums.
- c) Leur pouvoir anticomplémentaire.

Ces trois éléments ajoutent ou opposent leurs effets et agissent ainsi différemment sur le résultat final.

Dans aucune technique, les auteurs ne paraissent avoir attribué à ces éléments l'importance primordiale qu'ils occupent en réalité dans le mécanisme de la réaction.

Or, si le complexe hémolytique peut être fixe dans une même technique, il n'en est plus de même du pouvoir hémolytique et du pouvoir anticomplémentaire des sérums.

En effet, ces deux éléments sont très variables pour chaque sérum et, pour un même sérum, d'un prélèvement à l'autre.

Etant donnée la variabilité du pouvoir hémolytique naturel et du pouvoir anticomplémentaire, il résulte que la valeur du complexe hémolytique formé par le complément résiduel d'une part (complément restant efficace après destruction d'une fraction de complément initial par le pouvoir anticomplémentaire), et par le pouvoir hémolytique naturel d'autre part, est très différente d'un sérum à un autre. Ce complexe hémolytique, se surajoutant à l'action de l'hémolysine antimouton introduite dans la réaction en vue de sensibiliser les globules, la valeur du complexe hémolytique définitif pour les différents sérums sera très inégale.

L'excès du pouvoir hémolytique naturel aura une tendance à rendre négatif le résultat, l'excès du pouvoir anticomplémentaire, au contraire, aura tendance à le rendre positif.

Les résultats des réactions obtenus dans ces conditions sont donc soumis aux hasards des combinaisons du pouvoir hémolytique naturel et du pouvoir anticomplémentaire du sérum.

Afin d'obtenir des réactions exactes et comparables, il fallait une technique permettant d'uniformiser la valeur du complexe hémolytique effectif.

Notre technique au sérum chauffé permet de proportionner automatiquement la quantité exacte de complexe hémolytique mis en jeu convenant particulière-

ment à chaque sérum (en tenant compte de son pouvoir hémolytique naturel et de son pouvoir anticomplémentaire), et, ceci sans perte de temps et sans manipulations supplémentaires.

Elle est caractérisée par la mise en œuvre de doses variables d'hémolysine permettant, grâce à la loi de suppléance réciproque du complément résiduel et de l'hémolysine totale (sensibilisatrice naturelle + sensibilisatrice artificielle) d'obtenir un complexe hémolytique de valeur déterminée, toujours la même.

Cette technique, que nous avons expérimentée sur *plus de cinquante mille sérums*, s'est montrée d'une exactitude remarquable et nous a donné, en outre, comparativement avec d'autres techniques de Wassermann et de floculation des résultats toujours supérieurs et jamais aspécifiques.

*
**

Les sérums non chauffés possèdent un complément et une hémolysine naturels, mais les deux éléments sont très variables pour chaque sérum et pour un même sérum d'un prélèvement à un autre.

Le grand danger des réactions au sérum frais est donc cette variabilité de leur système hémolytique : un complexe hémolytique trop fort conduit à des résultats trop faibles; un complexe trop faible conduit à des résultats trop forts.

Mais nous savons, d'autre part, que lorsque le com-

plément est apporté par le sérum à examiner, la quantité de sérum mise en œuvre n'a aucune influence sur le résultat final de la réaction. Ceci permet de faire varier la quantité de sérum pour réaliser un complexe hémolytique optimum toujours de même valeur.

Notre technique, basée sur ce principe, est caractérisée par l'emploi de doses variables de sérum à examiner, permettant de choisir celle possédant le complexe hémolytique de la valeur désirée. Ceci sans perte de temps ni titrage supplémentaire.

Cette technique, expérimentée comparativement à la précédente sur plus de cinquante mille sérums, s'est montrée constamment plus sensible.

Elle nous a donné dans tous les cas des résultats exacts et comparables.

Vu : le Président de la thèse,

GOUGEROT.

Vu : le Doyen,

BALTHAZARD.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

- ACHARD et FOIX. — C. R. Soc. Biol., 1912. Vol. LXXIII.
- ALTMANN et SACHS. — Berl. Klin. Woch., 1908, n° 14.
- ALTMANN et ZIMMERN. — Val. de la réac. de Jacobsthal. Derm. Zeit. Vol. XX, n° 1, et Arch. fur Der. und Syph., 1912. Vol. III, n° 3.
- ANDERSON et SIMPTON. — Effet de l'adrénaline sur la réact. de B. W. Ind. Journ. of Med. Res., juillet 1925.
- ARBOUIN et LANGERON. — Revue critique sur le méc. de la réac. de fix. du comp. appliquée à la syphilis. Journal de Méd. de Lyon, n° 9, 1921.
- ARLO et CERTAIN. — Form. des hémolysines dans le sang des anim. préparés. C. R. Soc. Biologie. 13 déc. 1913.
- BAKMANN et JACOBÆUS. — Sur la quant. de compl. et d'amboc. et la qualité du sér. humain phys. C. R. Soc. Biol. 1909. LXVII.
- BALLET et RUBINSTEIN. — Séro-diagn. de la syph. Epr. comp. des réact. de fixat. Soc. de dermat. et syph. 17 mai 1923.
- BANG et FORSMANN. — Rech. sur la form. des hémolys. Beitr. Zeit. Chem. Phys. med. path. 1906.
- BAUER. — Simplific. de la technique de la séro-react. de la syph. Sem. Med. 2 sept. 1908.
- BAUER. — Simplific. de la technique de la séro-réact. de la Med. Woch. 1908, n° 16, et 1929, n° 10.
- BEAUVRY. — Chauff. ménagé du sér. d. la réact. de B. W., variante Hecht. C. R. S. Biol., t. LXXXVII, 25 nov. 1922.
- BERETVAS. — Derm. Zeit., t. LII, 11 avril 1928.
- BLUMENTHAL et JAFFE. — Ess. de perfect. techn. du séro-diagn. de la syph. Dermat. Zeit., t. III, avril 1928.
- BOAS. — Val. de la réact. ds. le trait. de la syph. Berl. Klin. Woch. 29 mars 1909.
- BORDET. — Le méc. de l'agglut. Ann. Inst. Past., mars 1899.
- BORDET. — Sérums hémolyt.; leur antitox. Ann. Inst. Past. 1900.
- BORDET. — Traité de l'immunité ds. les mal. infect. Masson, 1920.

- BORDET et RUELENS. — L'antig. Syph. de l'Inst. Past. de Bruxelles C. R. Soc. Biol., t. LXXXII.
- BRETON et DUHOT. — La réact. de Wass. et les techn. de Calmette et Massol. Bull. Inst. Past. LXVII, déc. 1919.
- BROWNING, DUNLOP et REUNARDAY. — La réac. de Wass. avec les sér. hum. non chauffés. Journal of Path. and Bacter., t. XXV, janvier 1922.
- BRUYNOGHE. — Le précipitogène du sér. chauffé. C. R. Soc. Biol., juillet 1924.
- BUSILA. — Une modification du procédé de Hecht. C. R. Soc. Biol., t. XVI., 1909.
- CALMETTE. — Meth. simple de Noguchi pour le séro-diagn. de la syph. Presse médicale, 1909, n° 26.
- CALMETTE et MASSOL. — C. R. Soc. Biol., juillet 1911; juillet 1912; juillet 1913. C. R. Acad. sciences, août 1911. Ann. Inst. Pasteur, avril 1914.
- CASSELMANN. — La stand. de la réac. de Wass. Jour. of lab. a clin. med., fév. 1926.
- DEBAIN. — Sur la réac. de Bordet-Geugou. C. R. Soc. Biol., juin 1914.
- DESMOULIÈRE et MERKLIN. — La réac. de Desmoulière tech : et interpr. clinique : Journ. Medic. Franc., août 1923.
- DESMOULIÈRE. — L'antig. dans la réac. de Wass. C. R. Ac. Sciences, t. XCV, p. 592; sept. 1912; nov. 1912, et Presse Medic., nov. 1913.
- DESMOULIÈRE. — Le compl. dans la réac. de Wass; Paris Med., juillet 1914.
- EIKEN. — Réact. de Wass. chez des lapins traités par un extr. de foie hér. syph. Zeit. fur Immun. Med. Exper. Thérapie., t. XXIV, sept. 1915.
- ESBACH et DUHOT. — Sur la sat. du p. hém. des sér. frais dans la séro-réact. de la syph. C. R. Soc. Biol., t. LXXXII, mai 1919.
- FOIX. — Méth. simp. des réact. de fix. C. R. Soc. Biol., juillet 1909.
- FORMANN. — Prépar. d'une hémolys. anim. haut. specif. sans emploi de sang de mout. Bioch. Zeit. 1911, n°s 37 et 77. Infl. de l'éther sur séro-réact. C. R. Soc. Biol. 1921.
- FRAENKEL. et JOLKWER. — Infl. de la temp. sur la réact. de Wass. Centralbl. f. Bakt., t. CIII., 1927.
- GALLIOT. — La syph. à réact. de B. W. irréductible. Soc. Franç. de derm. et de syph., mars 1929.
- GÉRARD. — Thermolab. des antic. syph. C. R. Soc. Biol., t. XXXI, oct. 1918.
- GERBAY. — Enquête sur la réact. de B. W. Ann. Mal. Ven. 1921.
- GORDON-DAVIS. — Destr. du compl. du ser. hum. par chauff. à 55°. The Journ. of Lab. and Clin. Medic., mars 1925.

- GRAETZ. — Infl. de la temp. sur la réact. de Wass. Zeit. fur Hyg, t. LXXXIX, 1919.
- GROSSO. — Recherche des reag. syph. avec le sér. non inactivé et avec le sérum. hémol. antihum. Trav. du lab. de Ther. exp. du Prof. Bruschetti, de Gênes, 1928
- GOUGEROT et de PROEDEL. — Syph. et cancer. Les séro-réact. de B. W. Hallion-Bauer et Hecht chez les cancéreux. II^e congrès de Dermat. et de Vénér. de langue franç. Strasbourg 1923.
- GOUGEROT et PEYRE. — Valeur diagnostique de la réact. de Desmoulière. Ann. des mal. vén., avril 1925.
- GOUGEROT. — Paradoxe et imperfect. du B. W. Journ. des Pratic., nov. 1924.
- GOUGEROT. — Réact. de Bordet-Wass. Irreduct. positives avec des oscill. de réact. négat. de cause inconnue. Ann. des Mal. Vénér., juin 1929.
- GOUGEROT. — B. W. tantôt négatifs tantôt posit. oscill. à longues périodes malgré la cont. du trait. Ann. des mal., Vén., juillet 1926.
- GOUGEROT. — Valeur diagnost. de la séroréact. de B. W. Paris Méd., juin 1929.
- HALER. — Les variat. du Wass. Journ. of Amer. med. assoc., mars 1916.
- HALLION. — Les anticorps dans la prat. exp. Pr. Méd., avril 1908.
- HALLION et BAUER. — Sur certaines causes de diverg. dans les résult. du séro-diagn. de la syph. par la méth. de Wass. et ses dérivées. Soc. Méd. des Hôp., fév. 1911.
- Au sujet de la réact. de Hech. Soc. Med. Paris, fév. 1912.
- HECHT. — Une simplif. de la méth. de la fix. du compl. dans la syph. Wiener Klin. Woch. 1908.
- HINKLEMAN. — Comment constituer une réact. de Wass. standard. Amer. journ. of syph., janv. 1925.
- HOENE. — Sur les différ. modif. de la réact. de Wass. Berl. Klinische Woch., fév. 1910.
- ISHII. — Etude sur la réact. de Wass. Amer. jour. of syph., janv. 1925.
- ISABOLINSKY. — Meth. compar. theor. et part. de ser. diagn. de la syph. Zeit. fur Imm. und Exp. Therap., t. II, 1909.
- JAUBERT. — Nouv. antig. pour le séro-diagn. de la syph. C. R. Soc. Biol., avril 1924.
- JEANSELME et BLOCH. — Réact. de B. W. Bull. med., sept. 1919.
- JOCHMANN et TOPFER. — Sur la spécif. de la réact. de fix. du compl. dans la syph. Munchen. Med. Woch. 1908, n° 2.
- JOUSSET et PARAKROVOPOULOS. — Causes d'erreurs dans la syph. diagn. par la réact. de fix. C. R. Soc. Biol., t. LXVII. 1909.

- KAHN et LYON. — Et. sur la fix. du compl. sur l'affin. des glob. de mout. pour les hémoly. antimout. Journ. of Infect. Diseases, t. XXIX, déc. 1921.
- KAHN et OLIN. — Et. sur la fix. du compl. La rapid. de la fix. du compl. dans la réact. de Wass. Ibid., t. XXIX, déc. 1921.
- KAHN, JOHNSON et BOYD. — Et. sur la fix. du compl. Les effets de la chal. sur les antic. dans la format. du compl. Ibid. t. XXIX, déc. 1921.
- KIRSCHBAUM. — La réact. de Wass. Neisser et Bruch. Deuts. Milit. Zeit. Année 38.
- KOLMER et LUKE. — Val. de la réact. de Wass. Arch. der. and syph. 1924.
- KREFTING. — Recherche conc. la réact. de Wass. Hosp. stid., n° 40, 1923.
- LACAPÈRE et GERBAY. — Présent. d'une échelle color. Soc. derm. et syph., avril 1922.
- LATAPIE. — Séro-réact. de la syph. Procédé simplifié Prép. de l'antig. C. R. Soc. Biol., t. LXXX, mars 1917.
- LAURENTIER. — Les syph. évol. à sérol. muette Ann. de m. et syph. 1917.
- LEREDDE et RUBONSTEIN. — Standardis. de la réact. de B. W. Pr. Med. 1920, n° 45.
- LEREDDE et RUBINSTEIN. — La sér. réact. dans la syph. Bul. Soc. Med. de Paris, avril 1914.
- LESSER. — Techn. et nat. de la réact. de Wass. Berl. Klini. Woch., mai 1909.
- LETULLE. — Techn. de Calmette et Massol pour la réact. de B. W. Der. Med., août 1920.
- LEVADITI. — Sér. diagn. de la syph. Pr. Med., mai 1907.
- LEVADITI et LATAPIE. — Pr. Med., avril 1910.
- LÉVY W. — Sur la réac. de Jacobsthal. C. R. Soc. Biol., t. CI, 1929.
- LÉVY W. — Quelques considérations sur la réac. de B. W. C. R. Soc. Biol., t. XCIX, 1928.
- LÉVY W. — De quelques considérations sur la réac. de B. W. Ann. Mal. Vén., n° 10, oct. 1928.
- LÉVY W. — Val. comp. des réac. d'hém. et de floc. Bull. Méd., n° 55, 1928.
- LÉVY-BING et LÉVY W. — Des garant. à exiger d'une réact. sérol. pour en tirer des conc. pos. dans le diag. de la syph. Vie Méd., n° 3, fév. 1931.
- LÉVY-BING. — Le microorganisme de la syph. oct. Doin, Paris 1907.
- LÉVY-BING et LAFFONT. — Syph. expérimentale. Doin édit.
- LÉVY-BING, GERBAY, HAAG. — La séro-réact. de Bordet Wass. dans la syph. prim. Ann. des Maladies Vén., mars 1918.

- LÉVY-BING, GERBAY, HAAG. — De l'infl. de l'antig. sur la date d'appar. de la réact. de Wass. dans la syph. prim. Ann. des Mal. Vén., août 1918.
- LÉVY-BING et GERBAY. — Mille cinq cents cas de chancres syphyl. Recherche sur la durée d'incub. de la syph. Ann. mal. vén. 1919, p. 323.
- MATHIS et LABOUGLE. — Réact. de B. W. selon la tech. de Calmette et Massol Rr. Méd., janv. 1919.
- MEYER. — L'hémolysine normale du sérum hum. causes d'erreurs dans la réact. de Wass. Med. Klin., n° 18, 1922.
- MULLER. — De l'empl. et de la signif. de la réact. de fix. du compl pour la réact. pour le diag. de la syph. Wien. Klin. Woch., fév. 1908.
- MUTTERMILCH et LATAPIE. — Sur une simpl. du proc. dit rapide pour le séro-diagn. de la syph. C. R. Soc. Biol., t. LXXXVI, avril 1922.
- MUTTERMILCH. — La Soc. des Nat. et le probl. de la stand. du séro-diagn. de la syph. Pr. Med. 13 août 1924.
- MUTTERMILCH. — La tech. du séro-diagn. de la syph. act. empl. à l'Inst. Past. à Paris. Ann. Inst. Past., sept. 1924.
- MUTTERMILCH. — Subst. qui prov. la réact. de Wass. dans le sér. des syph. et des lap. trépanosomiés C. R. Soc. Biol., t. LXVII, 1919.
- NATTAN, LARRIER, RAMON, LÉPINE et GRASSET. — Sur le pass. des hémol. nat. et artif. à trav. le placenta. C. R. Soc. Biol., juillet 1927.
- NEISSER. — L'applic. pratique de la réact. de Wass. Münch. Med. Woch. 1909, n° 21.
- NICOLAS et GATE. — La réact. de Was. positive a-t-elle une val. abs. Soc. Med. des Hôp. de Lyon, avril 1914.
- NICOLLE. — Concept. gén. des anticorps. C. R. Soc. Biol., juillet 1907.
- NICOLLE. — Les antig. et les antic. Paris. Masson, 1920.
- NINNI et MOLINARI. — Antig. chim. défini et spec. pour la réact. de Wass. Pathologica, t. XIX, juin 1927 et t. XX, août 1928.
- NINNI. — Le phénol employé comme antig. dans la réact. de B. W. Bul. Med., avril 1930.
- NOGUCHI. — Procédé nouv. et simple pour le séro-diagn. de la syph. Journ. of exp. Med., t. I, 1909.
- NOGUCHI. — Séro-diagnostic de la syph. Lippincott, 1912, trad. franç. Masson, 1914.
- NOGUCHI. — Séro-diagnostic de la syph., 1911.
- NOGUCHI. — Infl. de la temp. sur la rapidité de la fix. Journ. of Exp. Med., LXXVIII, 1918.
- NOGUCHI. — Methode simplifiée de séro-diagn. de la syph. Journ. of the Amer. Med. Assoc., avril 1918. Pr. Med., fév. 1919.

- OIGAARD. — Les affect. cardiaques, d'orig. syph. et la réact. de Wass. Zeit. fur Klin. Med., t. LXXXII, 1910.
- POSINI. — Sur les modif. app. par le temps de conserv. des sér. à la réact. de Wass. Il Policlinito, t. XXX, janv. 1923.
- PARIS et DESMOULIÈRE. — Sur un point de techn. de la réact. de Wass. Soc. Franç. de Dermat. et de Syph., fév. 1912.
- PARODI. — Sur la puissance anticompl. du sér. hum. Remarque sur la réact. de Wass. Ematologica., t. XXX, mai 1922.
- PASINI. — Rech. compl. sur les diff. méthodes de séro diagn. L'ospedale maggiore, 1909, n° 5.
- PAUTYRIER. — Réact. de Hecht. Reun. de Derm. de Strasbourg, mai 1924. A prop. de la réact. de B. W. Dans le chancre mou. Ibid.
- PEYRE. — Utilité du dosage du B. W. posit. au cours du trait. La Med., nov. 1924.
- PEYRE. — Int. de la méth. de dilut. dans la réact. de B. W. Num. des teintes. Autres corps. Presse Med., janv. 1921.
- PIETRA-VALLE. — Nature et princ. causes d'erreurs de la réact. de Wass. Ann. Hyg., t. XXXII, août 1922.
- PIETTRE et CHRETIEN. — Contrib. à l'étude biochimique de l'hémolyse. Edit. de la Rev. de Path. comp. Paris 1928.
- PINARD. — A propos de la réact. de Wass. par les mal. aiguës. Bull. et Mem. de la Soc. méd. des hôp. de Paris, mars 1926.
- PONS et ADNIER. — Val. diagn. de la réact. de Wass. Bull. de la Soc. de méd. et de chir. d'Indo-Chine. 1924.
- PORGES et MEIER. — Sur le dévelop. et l'état act. du séro-diagn. de la syph. Berl. Klin. Woch., déc. 1907.
- QUEYRAT. — Syph. héréd. infant. et séro-réact. Soc. franç. de Derm. et Syph., mars 1930.
- RANQUE, SENEZ et DAUFRENE. — De l'utilis. syst. des antig. multiples dans la réact. de B. W. Reun. biol. de Mars., nov. 1919 et C. R. Soc. Biol., t. LXXXII, 1924.
- RANQUE et SENEZ. — Sur la val. de la réact. de B. W. dans les diagn. de la syph. Marseille médic., janvier 1924.
- RAVAUT. — Que peut-on dem. à la réact. de B. W. Journ. méd. franç., déc. 1918.
- RENAUD. — Les limites de la sensib. de la réact. de B. W. Dispositif d'exp. pour l'ét. du seuil de la réact. Soc. Biol., nov. 1923.
- RENAUD. — Principes sérol. pour méth. des réact. basées sur la dev. du compl. C. R. Soc. Biol., mars 1924.
- RENAUD. — Quelle portée la réact. de B. W. doit-elle avoir dans la prat. médicale. Bull. et mem. Soc. Méd. Hôp. Paris, déc. 1926.
- RODILON. — La réact. de Wass. rendue simple et précise. Maloine, 1926.

- RONCHÈSE. — La réact. de B. W. Paris, Masson, 1919.
- RUBINSTEIN. — Réact. de fixat. Sérum de cobaye anti-mout. C. R. Soc. Biol., t. LXXX, mars 1919.
- RUBINSTEIN. — Séro-diagn. de la syph. Sérum de porc dans la réact. de Wass, t. *ibid.*, t. LXXXI, oct. 1918.
- RUBINSTEIN. — Emploi des sérums non chauffés pour le séro-diagn. de la syph., *ibid.*, t. LXXV, janvier 1917.
- RUBINSTEIN. — Traité pratique de sérologie et de séro-diagn. Paris, Maloine, 1921.
- RUBINSTEIN et RADOSSAVLIEVITCH. — Séro-diagn. de la syph. satur. du pouv. hémolytique des sérums, *ibid.*, t. LXXXII, av. 1919.
- RUBINSTEIN et RADOSSAVLIEVITCH. — Les err. de techn. dans la réact. de Hecht et leurs causes. Presse Médic., juillet 1919.
- RUBINSTEIN et RADOSSAVLIEVITCH. — Méth. de précipit. Nat. de la réact. de Wass. C. R. Soc. Biol., t. LXXXI, déc. 1918.
- RUBINSTEIN et ROUBAKINE. — La réact. de Wass. dans l'urine. Bull. de la Soc. franç. de Derm. et Syph., 1920.
- SACHS. — Les hémolysines et les sérums cytologiques. *Ergeb. der Allgem. Path. von Lubarsel und Ostertag.* 1907.
- SACHS et ALTMANN. — Sur l'act. de l'oléate de soude dans la réact. de Wass. pour la syph. Berl. Klin. Woch, mars 1908.
- SACHS et RONDINI. — Th. prat. de la réact. de Wass. Zeit. fur Imm. and Exp. Ther., t. I, déc. 1908.
- SCIARRA. — Nouv. méth. de séro-diagn. de la syph. Il Policlinico, t. XXXIII.
- SCIARRA. — Mécanisme int. de la séro-réact. de Wass. et de celle de Sciarra. Riforma med., t. XLIX, n° 24, juin 1928.
- SCALTRITTI. — Contrib. à l'étude de la réact. de Wass. spécif. d'un liquide card. isolée par le chlor. de cadmium. Ann. de la Fac. de méd. de Montevideo, janv.-fév. 1919.
- SCHOCH. — De l'infl. du palud. d'inoc. lors d'affec. syph. sur la séro-réact. de B. W. de Sachs et Georgi, de Meinicke et de Vernes. Soc. Franç. de Derm. et Syph., fév. 1929.
- SELINGMANN. — Mécan. de la réact. de Wass. Zeit. fur Imm., janv. 1909.
- SEZARY, PERNET et GALLERAND. — Les poussées temp. de la réact. de B. W. dans la syph. tardive. Presse médic., juillet 1927.
- SILBERSTEIN. — Sur les éléments d'extraits alcool. d'org. qui sont actifs. dans la réact. de Wass. Biochem. Zeit., t. LXXXVIII, 1918.
- SIMON (C1). — La réact. de B. W. négat. au cours de la syph. second. avec manifest. clin. Bull. méd., t. XXXIX, juin 1925.

- SMITS. — La réact. de Wass. et la grossesse. Amer. Jour. of Syph., 1923.
- STERN. — Procédé pr. simpl. et rendre plus précis le séro-diagn. de la syph. Zeit. fur Imm. und exp. Therm., t. I, fév. 1909.
- THAYSSSEN. — Var. de la réact. de Wass. dans la même journée.
- TOURAINÉ. — La réact. de Wass. en dehors de la syph. Rev. de Méd., 1920.
- TOYOSUMI. — Nat. des subst. cap. de fixer le compl. au cours de la syph. Wien. Klin. Woch., 1909.
- TRIBONDEAU. — Sur la prép. des ext. lipoïdes épurés selon Noguchi pour réact. de Wass. C. R. Soc. Biol., t. LXXX, juin 1917.
- TRILLAT et ROUSSET. — Réact. sérol. chez la femme enc. Gynés. et Obstétr., t. XVII.
- TSCHERNOGUBOW. — Une méth. simple de séro-diagn. de la syph. Berl. Klin. Woch., nov. 1908.
- VERNES. — Les signes humor. de la syph. Th. de Paris, 1913.
- WASSERMANN, NEISSER et BRUCK. — Une réact. séro-diagn. dans la syph. Dents. Med. Woch., mai 1906.
- WASSERMANN. — Sur le séro-diagn. dans la syph. Wien. Klin. Woch., mars 1908.
- WASSERMANN. — De l'état actuel de la question du séro-diagn. de la syph. Berl. Klin. Woch., déc. 1907.
- WATRIN. — La réact. de Hecht. dans la gross. C. R. Soc. Belge de Biol., juin 1921.
- WEIL et BRAUN. — Sur le rôle des lipoïdes dans la réact. de la syph. Wien. Klin. Woch., janvier 1908.
- WEIMBERG. — Ann. de l'Inst. Past., 1912.
- WOLBARST. — Contradict. du Wass. New-York med. Journ., t. XCVII, 1913.
- ZIMMERN. — Variations occultes de la séroréact. pendant la syph. prim. Dermat. Woch., n° 41, 1921.

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos	9
Introduction	11
Technique au sérum chauffé. Les éléments de la réaction	15
Antigène	15
Alexine	22
Le sérum hémolytique	26
Le sang de mouton	30
Sérum	32
Etude du complexe hémolytique	35
De l'influence des concentrations des divers éléments dans le premier temps de la réaction	41
Etude du pouvoir hémolytique naturel des sérums et de leur pouvoir anticomplémentaire	43
Etude de l'action combinée du P. H. N. et du P. A. C. ..	51
Technique de Wassermann classique et techniques dérivées. Critiques et considérations	56
Technique personnelle au sérum chauffé	63
Technique simplifiée	75
Réactions au sérum non chauffé	77
Influence du volume du sérum mis en jeu dans la réaction	90
Techniques au sérum non chauffé	93
Technique personnelle au sérum non chauffé	100
Réaction de Jacobsthal	112
Résultats obtenus par nos techniques	116
Valeur comparative des réactions d'hémolyse et de floculation	123
La réaction de Bordet-Wassermann en dehors de la syphilis	130
Conclusions	132
Bibliographie	136

